

**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA DE LUGO**



**“ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES  
PARASITARIAS DE LOS APARATOS DIGESTIVO, RESPIRATORIO Y  
REPRODUCTOR DEL GANADO CAPRINO EN GALICIA”**

Memoria presentada por el Licenciado en  
Veterinaria **D. Juan Pablo Béjar González** para  
optar al grado de Doctor.

Lugo, febrero de 2017



D. PABLO DÍAZ FERNÁNDEZ, Profesor Contratado Doctor del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

D. CEFERINO MANUEL LÓPEZ SÁNDEZ, Profesor Titular del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

DÑA. PATROCINIO MORRONDO PELAYO, Catedrática del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

Como Directores de la Tesis Doctoral titulada  
**“Estudio epidemiológico de las infecciones parasitarias de los aparatos digestivo, respiratorio y reproductor del ganado caprino en Galicia”** presentada por D. **Juan Pablo Béjar González**, alumno del Programa de Doctorado "Introducción a la Investigación en Medicina y Sanidad Veterinaria".

*Autorizan la presentación de la Tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctorado, y que como Directores de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 30/1992*

Y para que conste a los efectos oportunos, firman en Lugo, a 16 de febrero de 2017.

Pablo Díaz

Ceferino M. López

Patrocinio Morrondo





## **FINANCIACIÓN**

Este trabajo se ha realizado gracias a la concesión de los proyectos de investigación:

**Consolidación e Estructuración de Unidades de Investigación Competitivas. Grupos de Potencial Crecemento** (2012-PG243). Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria (17/06/2012-30/11/2014). Investigador responsable: Pablo Díez Baños.

**Consolidación e Estructuración. REDES GI-1702 RUMIGAL: Rede de estudo multidisciplinar dos ruminantes en Galicia.** Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria (2014-2015). Investigador Principal: Rosario Panadero Fontán.

**Ayuda para Consolidación y Estructuración de Unidades de Investigación Competitivas del Sistema Universitario de Galicia. Grupos de Referencia Competitiva** (GR2015/003). Consellería de Educación y Ordenación Universitaria. Xunta de Galicia. (2015-2018). Investigador Principal: Pablo Díez Baños

## **PUBLICACIONES**

Parte de los resultados obtenidos en el desarrollo de esta Tesis han dado lugar a las siguientes publicaciones:

### *A.- Artículos de investigación*

DÍAZ, P., CABANELAS, E., DÍAZ-CAO, J.M., VIÑA, M., **BÉJAR, J.P.**, PÉREZ-CREO, A., PRIETO, A., LÓPEZ, C.M., PANADERO, R., FERNÁNDEZ, G., DÍEZ-BAÑOS, P., MORRONDO, P. (2016). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats from north-western Spain. *Ann Agric Environ Med.* 23(4): 587-590. doi: 10.5604/12321966.1226851.



PÉREZ-CREO, A., DÍAZ, P., LÓPEZ, C., **BÉJAR, J.P.**, MARTÍNEZ-SERNÁNDEZ, V., PANADERO, R., DÍEZ-BAÑOS, P., UBEIRA, F.M., MORRONDO, P. (2016). *Fasciola hepatica* in goats from north-western Spain: Risk factor analysis using a capture ELISA. *Vet J.* 208:104-5. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.07.033.

*B. Contribuciones a congresos*

DÍAZ, P.; **BÉJAR, J.P.**; VIÑA, M.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; PATO, F.J.; PÉREZ, A.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2011). Infecciones parasitarias digestivas y pulmonares en la raza autóctona “Cabra Galega”: influencia del sexo y de la edad. *XXXVI Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)*, 5-7 de octubre. San Sebastián, 2011.

CABANELAS, E., **BÉJAR, J.P.**, PÉREZ, A., PANADERO, R., LÓPEZ, C.M., FERNÁNDEZ, G., MORRONDO, P., DÍAZ, P., DÍEZ-BAÑOS, P. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Galicia (N.W. Spain). *XXI International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)*. 23-26 Abril, Cartagena (España), 2014.

**BÉJAR P.**, DÍAZ P., PRIETO A., PANADERO R., FERNÁNDEZ G., LÓPEZ C., DÍEZ-BAÑOS P., MORRONDO P. (2014). Infecciones por nematodos broncopulmonares en ganado caprino en la comunidad gallega. *XXXIX Congreso Nacional SEOC*. 17-19 Septiembre, Ourense (España), 2014.



## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han participado en la realización de este trabajo, y de manera muy especial:

A mis directores, a los que profeso una gran admiración y les quiero agradecer su preocupación en que adquiriera el mayor conocimiento posible a lo largo de estos años. Al Prof. Dr. Pablo Díaz por siempre estar dispuesto a echar una mano, por los buenos consejos y su apoyo incondicional. Al Prof. Dr. Ceferino López por aportar sus interminables conocimientos matemáticos e informáticos y por su siempre buen humor. A la Profa. Dra. M<sup>a</sup> Patrocinio Morrondo Pelayo, por su dedicación y sus aportaciones al manuscrito.

Al Catedrático de la unidad de Parasitología y Enfermedades parasitarias, Prof. Dr. Pablo Díez Baños, por poner a mi disposición todos los medios necesarios del laboratorio de Parasitología y Enfermedades parasitarias; así como por ser una fuente incansable de conocimientos. A la Profa. Dra. Rosario Panadero porque siempre estuvo ahí cuando la necesité.

A los Profesores Doctores Rita Sánchez-Andrade, Adolfo Paz Silva y María Sol Arias por su ayuda, siempre que la he necesitado, su compañerismo y por los ratos compartidos a lo largo de estos años.

A todos los compañeros del Departamento, especialmente a Ana, Eva, Esther y Susana, merecéis una página de agradecimientos cada uno.

A Ana, Miguel y Yolanda, los veterinarios de la AD SG ACIVO que colaboraron activamente en este estudio; porque siempre ha sido un placer trabajar con ellos.

A mis compañeros de BOAGA porque en la etapa que estuve con ellos me ayudaron en todo lo que necesitaba, y por el trabajo que llevan haciendo en la defensa de las razas autóctonas gallegas.

A los ganaderos que desinteresadamente participaron en este trabajo, sin ellos este trabajo nunca se hubiera realizado.

A mis dos pilares fundamentales, Loli y Mario, porque día a día me dan energía para seguir dedicándome a esta difícil profesión, sin ellos nada de esto sería posible.

A mis padres, por su constante apoyo, y por siempre estar ahí, aunque los tenga lejos siempre he sentido que están a mi lado.



## Índice

<b>1. Antecedentes del tema .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA GANADERÍA CAPRINA .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. INFECCIONES QUE AFECTAN AL APARATO DIGESTIVO.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.1. Protozoos .....</b>	<b>9</b>
1.2.1.1. <i>Eimeria</i> spp.....	9
<b>1.2.2. Cestodos .....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.3. Trematodos .....</b>	<b>25</b>
1.1.2.1. <i>Fasciola hepatica</i> .....	25
1.1.2.2. Anfistomas.....	31
1.1.2.3. <i>Dicrocoelium dendriticum</i> .....	32
<b>1.2.4. Nematodos.....</b>	<b>35</b>
<b>1.3. INFECCIONES DEL APARATO RESPIRATORIO .....</b>	<b>50</b>
<b>1.4. INFECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR .....</b>	<b>59</b>
1.4.1. <i>Toxoplasma gondii</i> .....	59
1.4.2. <i>Neospora caninum</i> .....	68
<b>2. Objetivos generales .....</b>	<b>77</b>
<b>3. Estudios realizados .....</b>	<b>81</b>
<b>I. Estudio de los parásitos que afectan al aparato digestivo .....</b>	<b>85</b>
<b>3.1.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>87</b>
<b>3.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>88</b>
3.1.2.1. Características del área de estudio y de los animales .....	89
3.1.2.2. Factores de riesgo.....	91
3.1.2.3. Análisis coprológicos.....	91
3.1.2.4. Identificación genérica y específica .....	94
3.1.2.5. Análisis estadísticos.....	100
<b>3.1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>100</b>
3.1.3.1. Prevalencia e identificación de ooquistes de <i>Eimeria</i> .....	100
3.1.3.2. Prevalencia y eliminación de huevos de cestodos.....	107
3.1.3.3. Prevalencia y eliminación de huevos de trematodos.....	110
3.1.3.4. Prevalencia de infección por nematodos gastrointestinales .....	111
3.1.3.4.1. <i>Trichuris</i> .....	111
3.1.3.4.2. <i>Nematodirus</i> .....	114
3.1.3.4.3. Estrongílidos (Otros nematodos gastrointestinales).....	116





<b>II. Estudio de los parásitos que afectan al aparato respiratorio.....</b>	<b>125</b>
3.2.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	127
3.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS .....	128
3.2.2.1. Análisis coprológicos.....	128
3.2.2.2. Factores de riesgo.....	129
3.2.2.3. Análisis estadísticos.....	129
3.2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	131
3.2.3.1. Prevalencia e identificación larvaria .....	131
3.2.3.2. Influencia de los diferentes factores de riesgo.....	132
<b>III. Estudio de los parásitos que afectan al aparato reproductor .....</b>	<b>139</b>
3.3.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	141
3.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	142
3.3.2.1. Estudio serológico .....	142
3.3.2.2. Factores de riesgo.....	144
3.3.2.3. Análisis estadísticos.....	145
3.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	145
3.3.3.1. Seroprevalencia .....	145
3.3.3.2. Influencia de los diferentes factores de riesgo.....	146
<b>4. Conclusiones.....</b>	<b>155</b>
<b>5. Resumen .....</b>	<b>161</b>
<b>6. Bibliografía.....</b>	<b>181</b>





## **1 ANTECEDENTES DEL TEMA**



## **1. ANTECEDENTES DEL TEMA**

### **1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA GANADERÍA CAPRINA**

La cabra es una de las primeras especies de rumiantes domesticadas por el hombre, como lo demuestran los restos encontrados en las más antiguas civilizaciones, siendo reconocido su destacado papel en el bienestar humano por muchos pueblos antiguos como proveedora de leche, carne, pelo y piel. Sin embargo, el ganado caprino, y más concretamente, el uso que esta especie hace de la vegetación natural, ha suscitado históricamente una agria polémica entre sus detractores y defensores que, en el siglo XIX, desembocó en atribuir a la cabra la culpa del deterioro medioambiental y especialmente de la desertificación de las zonas en donde había mayor densidad de estos animales. De hecho, donde no podía subsistir otro ganado, en las zonas más degradadas, era donde seguía habiendo cabras; el mayor número de cabezas se concentraba en los países y regiones más pobres, lo que llevó a la conclusión de que la cabra era la responsable directa de la miseria, hasta el punto de que se relacionó directamente a la cabra con la falta de recursos económicos de sus dueños, por lo que se le denominaba la “vaca de los pobres”. Sin embargo, este animal es únicamente el último eslabón posible en una larga historia de continuas malas prácticas agrícolas y ganaderas.

Actualmente, el ganado caprino está reconocido como una especie insustituible no sólo en las zonas áridas y secas, sino en todas aquellas áreas difíciles (zonas de montaña, altiplanos fríos e incluso regiones tropicales) donde el singular comportamiento alimentario de este animal y su capacidad de adaptación permite transformar la energía solar fijada por los escasos recursos vegetales que existen en esas áreas en alimentos de altísima calidad.

En Europa, el ganado caprino juega un importante papel como productor de leche que se transforma en alimentos de alta calidad gastronómica. Así, en la Unión Europea (UE) el número de cabezas en 2015 alcanzaba los 12.713.900 (1,2% del censo mundial), mientras que su producción láctea representa aproximadamente el 10,4% del total de leche de cabra

producida en el mundo (MAGRAMA 2015). Dentro de Europa, es en los países mediterráneos donde los sistemas de producción del ganado caprino están más arraigados, siendo Francia, donde más existe mayor tradición de explotación de estos rumiantes merced al desarrollo de una potente industria quesera. El ganado caprino francés está muy seleccionado y se explota en sistemas bastante intensificados pero muy optimizados, ya que con 1.300.000 cabras producen más de 600 millones de litros de leche (FAOSTAT 2013) que se transforman en una variada gama de quesos puros de cabra comercializados, en su gran mayoría, bajo denominaciones de origen protegidas. En el otro extremo se encuentra Grecia, que tiene el censo más alto de caprinos de toda la UE, aproximadamente cinco millones de cabezas, pero las razas no se han seleccionado adecuadamente y no se han realizado mejoras en el sistema de explotación y en consecuencia la producción de leche es baja (500 millones de litros), aunque el queso y la carne tienen una gran aceptación local; no obstante, este tipo de sistema de explotación tradicional tiene una gran importancia en Grecia, tanto para mantener las poblaciones en las áreas rurales más desfavorecidas como para conservar las razas autóctonas y la cultura tradicional.

La situación de este sector en España es intermedia, el censo es de aproximadamente tres millones de cabras y la producción anual de 463 millones de litros de leche (MAGRAMA 2015); sin embargo, se conserva un excelente patrimonio genético, con razas autóctonas más rústicas y otras más seleccionadas y productivas; además, paralelamente al sistema de explotación tradicional se han desarrollado otros más actuales y optimizados. Los productos derivados de la explotación de las cabras, no solo tienen importancia en las áreas donde se producen si no que están adquiriendo una gran importancia como alimentos de gran calidad que tienen una alta demanda (quesos de calidad y cabrito lechal) y elevado precio. Además, en nuestro país, el número de cabras y de explotaciones ha experimentado un notable ascenso en los últimos años (MAGRAMA, 2015), siendo Andalucía (35,2%), Castilla la Mancha (15,6%) y Canarias (7,5%) las Comunidades Autónomas que tienen mayor censo de ganado caprino (Figura 1.1.).

En Galicia la importancia del sector ganadero ha variado con los años y, aunque la principal actividad ganadera sigue siendo la explotación del ganado vacuno de leche; sin embargo, en las últimas décadas, se está propiciando la explotación de los rumiantes en

extensivo, ya que la producción de carne en este tipo de ganadería es de gran calidad y necesita poco gasto de energía fósil, por lo que es capaz de mantenerse con eficacia y de forma sostenible y duradera. Este hecho ha propiciado que el censo de explotaciones caprinas y ovinas, aunque sigue siendo inferior al del bovino, progresivamente se está incrementando (Consellería do Medio Rural, 2016).

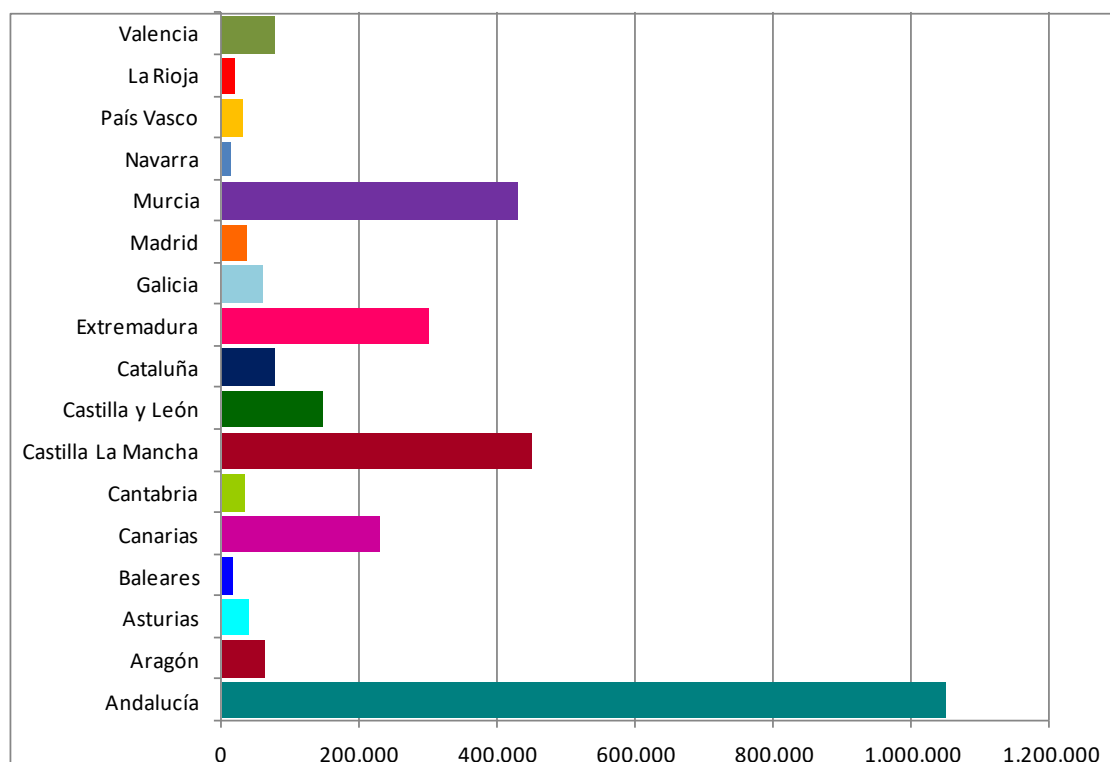


Figura 1.1. Censo caprino en España dependiendo de la Comunidad Autónoma, año 2015 (MAGRAMA, 2015)

En los últimos años la explotación del ganado caprino en España se ha profesionalizado, aunque sigue siendo bastante heterogénea respecto a los sistemas de explotación, razas utilizadas y nivel de formación de los ganaderos. La mayoría de las cabras se explotan para producción leche que se utiliza, básicamente, en la elaboración de quesos; mientras que, la producción de carne se considera, en general, un producto secundario. Por el contrario, en Galicia, predominan las razas de cabra de producción cárnica; estas se mantienen en pastoreo extensivo o semiextensivo en zonas de montaña, donde hace años se explotaban en “*veceiras*” (rebaños comunitarios), normalmente de forma conjunta con ganado ovino (Tabla 1.1.).

En Galicia, el censo caprino es de 43.887 cabezas (MAGRAMA, 2015) y su distribución en las 4 provincias se resumen Figura 1.2.

Tabla 1.1. Número de explotaciones y de animales al considerar el tipo de explotación y la provincia en la que se localizaban (Consellería do Medio Rural, 2014).

Provincia	Explotaciones con solo cabras (nº cabras)	Explotaciones con solo ovejas (nº ovejas)	Explotaciones mixtas: cabras y ovejas (nº cabras/ovejas)
A Coruña	813 (3.673)	4.503 (25.447)	607 (2.653/4.629)
Lugo	1.316 (9.323)	4.406 (38.704)	975 (8.374/14.702)
Ourense	267 (5.480)	2.762 (54.587)	354 (7.323/19.910)
Pontevedra	778 (3.700)	4.192 (20.871)	745 (3.523/6.372)
Galicia	3.174 (22.176)	15.863 (139.609)	2.672 (21.873/45.627)

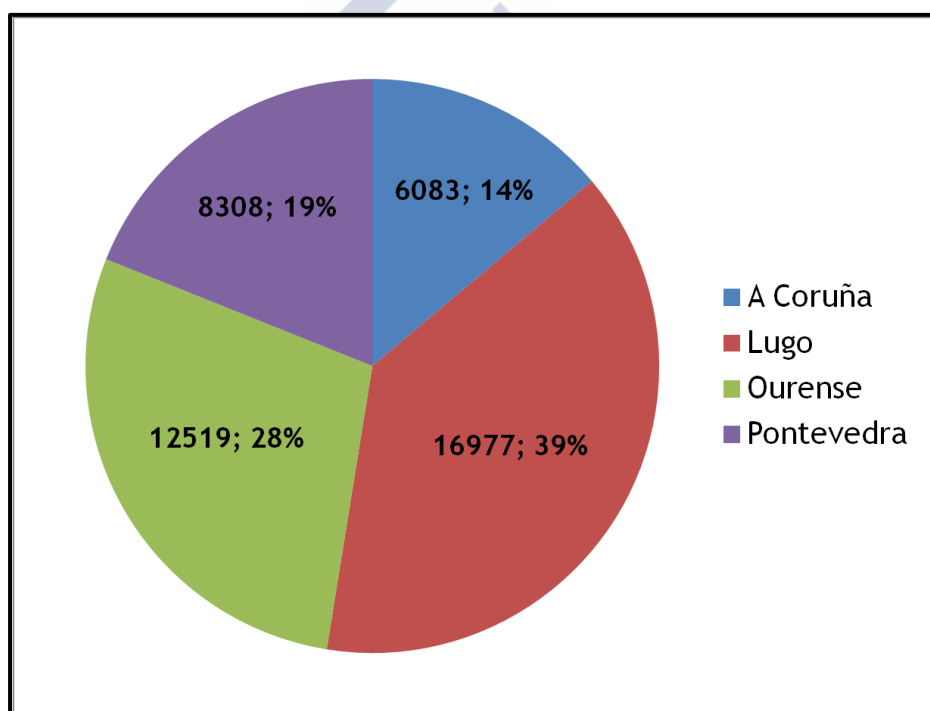


Figura 1.2. Distribución del censo caprino en las 4 provincias gallegas.

En Galicia, las cabras son óptimas para el aprovechamiento de los recursos naturales de nuestra Comunidad, debido a su rusticidad y adaptación a la orografía y climatología de las montañas gallegas. El tamaño de estas ganaderías es variable, siendo frecuente los rebaños con menos de 100 animales, aunque excepcionalmente hay explotaciones con más de 400 cabezas. El 95% del ganado caprino de Galicia proviene de cruces de diversas razas de la Península Ibérica; no obstante, existe un pequeño núcleo de cabras de raza Alpina y de raza



autóctona Murciano-Granadina, dedicado a la producción de leche y un reducido número de animales de raza autóctona “Cabra Galega” que, merced a un convenio firmado con la Xunta de Galicia, desde el año 2010 se está trabajando en su recuperación y conservación a través de la Federación de razas autóctonas de Galicia.

La raza “Cabra Galega” se encuadrada dentro del biotipo ambiental. Los animales se caracterizan por poseer perfil recto o subcóncavo, eumétricos, sublongilíneos y por su gran dimorfismo sexual; las hembras tienen cuernos en arco hacia atrás tipo aegagrus, mientras que en los machos son frecuentes los cuernos tipo prisca. La capa es caoba-rojiza con diferentes tonalidades y algunos animales pueden presentar pelos largos y abundantes en distintas regiones del tercio anterior y posterior, mientras que en otros los pelos se distribuyen uniformemente por todo el cuerpo (Figura 1.3.).

El censo actual de cabras que cumplen con el estándar racial es aproximadamente de 884 ejemplares (MAPAMA 2015), distribuidos por toda la comunidad Gallega, aunque la mayoría de las explotaciones se concentran en las zonas de alta montaña de Lugo (Ancares) y Ourense (parque Nacional do Xurés).



**Figura 1.3. Ejemplares de la raza autóctona Cabra Galega**

Los animales de raza “Cabra Galega” son muy rústicos y perfectamente adaptados a las duras condiciones orográficas y climáticas de la montaña donde se explota en régimen semi-extensivo, fundamentalmente, para producir carne de calidad. Sin embargo este tipo de explotación conlleva dificultades para el control sanitario del ganado que, unido a las características edáficas y climatológicas de Galicia, existen las condiciones idóneas para el desarrollo de ciclos biológicos de algunos parásitos.

El principal objetivo de la explotación de cabra galega es la producción de carne de cabrito. Estos se crían, o bien en extensivo y, en este caso, las crías salen al monte con su madre y se alimentan de su leche desde el primer día de vida y únicamente se alimentan con leche materna, o bien en semiextensivo, en este caso, las crías también son alimentadas por sus madres, pero cuando las condiciones climatológicas son adversas se estabulan y su alimentación se suplementa con cereales.

A pesar de que en el siglo XVIII se calcula que había 600.000 ejemplares, en la actualidad su censo ronda los 50.000 ejemplares. Cuando en el año 2010 se iniciaron los programas de recuperación de esta raza autóctona, y debido a que en Galicia estos animales siempre estuvieron ligados a zonas montañosas, se encontraron ejemplares de cabra galega en los Ancares lucenses y en la Baixa Limia en Ourense. En el último censo realizado en 2012, el número de animales había aumentado considerablemente, debido a que se había incrementado el número de criadores que apostaban por esta raza (Tabla 1.2.).

**Tabla 1.2. Censo de ejemplares adultos de raza cabra galega (BOAGA, 2012)**

	Ganaderías	Machos	Hembras	TOTAL
A Coruña	6	6	42	48
Lugo	18	32	237	269
Ourense	21	25	163	189
Pontevedra	9	5	29	34

En estudios previos realizados en la Cátedra de Parasitología y Enfermedades parasitarias de la Facultad de Veterinaria de Lugo, se ha comprobado que, en Galicia, concurren las condiciones edafoclimáticas idóneas para el desarrollo de la mayoría de los ciclos de los parásitos que afectan a los rumiantes. De hecho en esos estudios previos, se comprobó que un elevado porcentaje de cabras padecen diferentes infecciones de etiología parasitaria, entre las

que destacaban las infecciones ocasionadas por nematodos gastrointestinales, broncopulmonares (Cienfuegos *et al.*, 2009 a), por trematodos hepáticos (Pérez-Creo *et al.*, 2016b) y las producidas por algunos protozoos (Díaz *et al.*, 2016). No obstante, con anterioridad a este estudio, no se había realizado una investigación global de los principales infecciones de etiología parasitaria que afectan a los aparatos digestivo, broncopulmonar y reproductor en las cabras explotadas en diversos regímenes y circunstancias en Galicia. Además y de acuerdo con diversos autores (Dimander *et al.*, 2003), para reducir la prevalencia de infección por los diferentes grupos de parásitos e incrementar la productividad de los animales, es necesario el desarrollo y posterior aplicación de programas estratégicos de control basados en información de los patrones epidemiológicos de los procesos parasitarios en las diferentes zonas, puesto que la aplicación de tratamientos antihelmínticos incorrectos y sin base epidemiológica suelen resultar poco eficaces, muy costosos y hasta potencialmente perjudiciales (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2001; Díez-Baños *et al.*, 2008).

## 1.2. INFECCIONES QUE AFECTAN AL APARATO DIGESTIVO

Existe un elevado número de infecciones digestivas de etiología parasitaria que afectan a los rumiantes y concretamente a las cabras; entre ellas destacan las producidas por protozoos, cestodos, trematodos y nematodos gastrointestinales.

### 1.2.1. Protozoos

En los rumiantes, los principales problemas gastroentéricos causados por protozoos son los producidos por parásitos que pertenecen a la subclase Coccidia, especialmente por los géneros *Eimeria* y *Cryptosporidium*. Debido a que las infecciones por *Cryptosporidium* spp afectan sobre todo a cabritos neonatos menores de 3 semanas (de Graaf *et al.*, 1999), nos centraremos en las eimeriosis.

#### 1.2.1.1. *Eimeria* spp.

Las infecciones por las diferentes especies de este género, tanto clínicas como subclínicas, constituyen una de las afecciones parasitarias más importantes y frecuentes en el ganado caprino a nivel mundial (Norton, 1986). Estos protozoos Apicomplexa provocan diarreas en estos pequeños rumiantes, especialmente en los cabritos y en animales

inmunodeprimidos manejados en régimen intensivo y con condiciones higiénicas deficientes (Smith y Sherman, 2009). Las infecciones por *Eimeria* spp. causan notables mermas económicas en las explotaciones de ganado caprino, relacionadas principalmente con la disminución de las producciones y con elevados porcentajes de mortalidad, que en los cabritos puede llegar hasta el 58% (Jalila *et al.*, 1998; Ruíz *et al.*, 2013).

El ciclo biológico de todas las especies de *Eimeria* es monoxeno, y consta de una fase interna y otra externa. Los animales infectados eliminan ooquistes con las heces que, en condiciones adecuadas, esporulan en el medio (esporogonia); de esta manera se forman 4 esporocistos con 2 esporozoítos cada uno. Cuando un hospedador adecuado ingiere ooquistes esporulados, se infecta. Los esporozoítos invaden el epitelio del intestino delgado, donde se dividen asexualmente (merogonia); posteriormente, los merozoítos originan las formas sexuales (gametogonia). La conjugación de los gametos dará lugar a un cigoto rodeado de una fuerte membrana, que constituye el ooquiste.

Aunque en un principio se creyó que ovejas y cabras compartían las mismas especies de *Eimeria*, hoy se estima que cada hospedador tiene sus propias especies; de hecho, se ha comprobado que no existen infecciones cruzadas entre las especies de *Eimeria* que infectan al ganado ovino y al caprino (Norton 1986; Hidalgo y Cordero, 1999). Hasta el momento se han descrito 18 especies de *Eimeria* que afectan a las cabras (Norton 1986; Soe y Pomroy 1992; Hidalgo y Cordero 1999; Smith y Sherman, 2009), que incluyen *Eimeria alijeve*, *Eimeria aspheronica*, *Eimeria arloingi*, *Eimeria capralis*, *Eimeria caprina*, *Eimeria caprovina*, *Eimeria charlestoni*, *Eimeria christenseni*, *Eimeria hirci*, *Eimeria jolchijevi*, *Eimeria kocharli*, *Eimeria marisca*, *Eimeria masseyensis*, *Eimeria minesensis*, *Eimeria ninakohlyakimovae*, *Eimeria pallida*, *Eimeria punctata* y *Eimeria sundarbanensis*, aunque el número de especies válidas varía dependiendo de cada autor (O'Callaghan, 1988). Los ooquistes de cada especie pueden diferenciarse por sus características morfométricas, que en muchas de estas especies son similares a sus análogas en ovino.

En la Tabla 1.3. se resumen, ordenadas alfabéticamente, las especies más frecuentes de *Eimeria* spp en cabras en Europa; así como, su similitud con las especies que parasitan al ganado ovino. También se incluye información sobre su potencial patógeno y su localización preferente en el tracto gastrointestinal (Taylor, 2007; Smith y Sherman, 2009).

**Tabla 1.3. Especies de *Eimeria* identificadas en cabras en Europa: patogenicidad, localización y similitud con las especies que afectan al ganado ovino**

Especies	Patogenicidad	Localización	Especies similares en ovinos
<i>E. alijevi</i>	+	ID, IG	<i>E. parva</i>
<i>E. arloingi</i>	++/+++	ID	<i>E. bakuensis</i> ( <i>E. ovina</i> )
<i>E. aspheronica</i>	+	Desconocido	<i>E. faurei</i>
<i>E. caprina</i>	++/+++	ID, IG	Ninguna
<i>E. caprovina</i>	++	Desconocido	También en ovejas
<i>E. christensenii</i>	++/+++	ID	<i>E. ashata</i>
<i>E. hirci</i>	-	Desconocido	<i>E. crandallii</i>
<i>E. jolchijevi</i>	-	Desconocido	<i>E. granulosa</i>
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	++++	ID, IG	<i>E. ovinoidealis</i>

*E. alijevi* es poco patógena. Sus esquizontes son de gran tamaño y se localizan en las células epiteliales de las vellosidades de la parte media del intestino delgado; además, posee esquizontes más pequeños que se sitúan en las células epiteliales de las criptas de Lieberkühn. Los gametocitos y ooquistes se localizan en el intestino grueso y parte terminal del intestino delgado. Los ooquistes son similares a los de *E. parva*, que es una especie poco patógena para el ganado ovino.

*E. arloingi* es la especie más frecuente y una de las más patógenas para el ganado caprino, y se considera responsable de varios brotes de coccidiosis (Vercruysse, 1982; Levine, 1985); de hecho, la ingestión de 10.000 ooquistes de esta especie provocó la muerte de cabritos de 6 semanas de raza Angora (Sayin *et al.*, 1980). De todos modos, la presencia de elevados recuentos de ooquistes en heces (varios millones) suele estar asociada únicamente con procesos moderados y diarrea transitoria (Yvoré *et al.*, 1987). Sus características morfológicas son semejantes a las de *E. bakuensis* (*E. ovina*) de la oveja, con la que se confundió durante mucho tiempo, y que es especialmente patógena en la fase asexual, ya que los estados sexuales producen menos daño debido a que los animales infectados tienden a recuperarse antes de la eliminación de ooquistes. *E. arloingi* es una especie muy prevalente y además patógena. El período de prepatencia es de 15-18 días. Afecta a principalmente a la parte posterior del yeyuno, aunque también se localiza en duodeno, íleon y ganglios mesentéricos. Se observan dos generaciones de esquizontes, los de la primera generación son gigantes (250-366 µm) y contienen miles de merozoítos; se localizan en vasos quilíferos de las vellosidades, mucosa y submucosa del duodeno, yeyuno e íleon, placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos. Los esquizontes de la segunda generación son más pequeños



(12-16  $\mu\text{m}$ ), contienen 8-24 merozoítos y se localizan en células epiteliales de las criptas y vellosidades de yeyuno e íleon, al igual que los estados sexuales.

*E. apsheronica* en las cabras es poco patógena; no obstante es similar a *E. faurei*, de la que no existen pruebas concluyentes acerca de su patogenicidad en la oveja. La fase asexual con macroesquizontes de 100  $\mu\text{m}$  tiene lugar en el intestino delgado y la sexual en el intestino grueso. El período de prepotencia oscila entre 13-15 días. Por su parte, *E. caprina* es moderadamente patógena, y se localiza en ciego, colon y recto; no se conoce la existencia de una especie equivalente en ganado ovino. *E. caprovina* se considera también moderadamente patógena para el ganado caprino. Sus ooquistes son ligeramente más cortos y anchos que los de *E. caprina*, siendo difícil de diferenciar (Norton, 1986). Según Levine (1985), *E. caprovina* es capaz de infectar experimentalmente al ganado ovino.

*E. christenseni* es muy prevalente en el ganado caprino en Europa y suele ir asociada a infecciones multiespecíficas. Aunque esta especie es poco prolífica; sin embargo, es muy patógena y puede ocasionar la muerte de los animales infectados. El periodo de prepatencia es de aproximadamente 17 días. La primera generación esquizogónica origina esquizontes gigantes (184-100  $\mu\text{m}$ ), que afectan a las células endoteliales de los vasos quilíferos del yeyuno e íleon, lámina propia y vasos linfáticos de la submucosa, así como en ganglios linfáticos mesentéricos. Contienen miles de merozoítos, rectos, con un extremo redondeado y el otro puntiagudo. La segunda generación de esquizontes son más pequeños ( $14 \times 10 \mu\text{m}$ ) y se localizan en el intestino delgado y contienen 8-24 merozoítos de forma lanceolada. Los gamontes se sitúan en la porción terminal del intestino delgado, en células epiteliales de las vellosidades y en las criptas del yeyuno e íleon. Morfológicamente se parecen sus ooquistes a los de *E. ahsata* de los ovinos, que tanto en condiciones experimentales como naturales es muy patógena para los corderos.

*E. hirci* parasita el intestino delgado de los caprinos adultos. Su prevalencia es bastante elevada, aunque se considera una especie apatógena. Los ooquistes son muy parecidos a los de *E. crandallis* de la oveja en la que se considera moderadamente patógena, ya que se considera improbable que produzca coccidiosis clínica en ovejas infectadas naturalmente, a menos que los animales se hayan expuestos repentinamente a dosis muy altas. *E. jolchijevi* es comparable a *E. granulosa* de la oveja, poco patógena para esta especie de rumiante y cuyo ciclo endógeno no se conoce totalmente. Es poco común y se ha identificado en Estados Unidos, Reino Unido y Australia.

*E. ninakohlyakimovae*, muy común, es la especie de *Eimeria* más patógena para el ganado caprino (Vercruysse, 1982; Levine, 1985; Ruíz *et al.*, 2006). Se debe considerar que la intensidad de infección por esta especie no suele mostrar una relación directa con la excreción de ooquistes, cuyo número suele ser más bien reducido; así, Yvoré *et al.* (1987) asociaron recuentos de 200.000 ooquistes por gramo con diarrea severa, depresión y muerte de los animales. Se localiza fundamentalmente en yeyuno e íleon, donde forma dos generaciones de esquizontes: macroesquizontes de hasta 290 µm y otros de pequeño tamaño. Estos últimos, junto con los gamontes, se observan en células epiteliales del íleon, ciego y colon, donde destruyen las células basales del epitelio, dejando la mucosa desnuda. Los ooquistes son similares a los de *E. ovinoidalis*. Además, *E. marsica*, identificada únicamente en España (Smith y Sherman, 2009), se ha descrito tanto en ganado caprino como ovino.

*E. arloingi* y *E. ninakohlyakimovae* se consideran las especies más abundantes en el ganado caprino (Vercruysse, 1982; O'Callaghan, 1989; Borgsteede y Dercksen, 1996; Kusiluka *et al.*, 1996; Ruíz *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2014), y por su elevada patogenicidad, suelen ser las responsables de la aparición de coccidiosis clínica, junto con *E. caprina* (Koudela y Boková, 1998). Los efectos patógenos de *Eimeria* se deben a su multiplicación intracelular y destrucción del epitelio gastrointestinal (Smith y Sherman, 2009). Cada especie suele tener predilección por una localización determinada; aunque en los mamíferos, en general, se considera que las especies de coccidios que afectan al intestino grueso son las más patógenas, como se señaló anteriormente, en el ganado caprino también lo son las que invaden el intestino delgado. Sin embargo, como las infecciones suelen ser mixtas, estando implicadas varias especies del protozoo (Vercruysse, 1982; Norton, 1986; O'Callaghan, 1989; Kusiluka *et al.*, 1996; Koudela y Boková, 1998), las lesiones pueden ser muy extensas y afectar a gran parte del tracto intestinal. Además, especies menos patógenas se pueden potenciar con las que son más patógenas y provocar una coccidiosis clínica; así, por ejemplo, *E. arloingi* favorece el desarrollo de *E. ninakohlyakimovae*.

Las coccidiosis clínicas hiperagudas están relacionadas con una intensa pérdida de sangre en la luz intestinal, y suelen ser fatales (Smith y Sherman, 2009). Las coccidiosis clínicas de curso agudo afectan especialmente a los cabritos en la época del destete y aparecen a las tres semanas de una infección intensa, manifestándose con diarrea más o menos marcada, con eliminación de heces líquidas, sin mucus ni sangre en el caso de las provocadas por *E.*

*christenseni*; por el contrario, la infección por *E. ninakohlyakimovae* origina deyecciones pastosas, con mucus y estrías sanguinolentas. Debido a la diarrea, los animales se deshidratan, se debilitan y, a veces, sufren ataxia y pueden llegar a no sostenerse en pie. En general, se observa retraso general del crecimiento, que puede alcanzar hasta un 10%, depresión, pérdida del apetito y adelgazamiento en la mayoría de los animales del rebaño; el tenesmo es menos frecuente que en ovejas y vacas (Koudela y Boková, 1998; Ruíz *et al.*, 2013). Además, los animales presentan la zona perianal sucia por deyecciones diarreicas. Las coccidiosis subclínicas pueden alterar los índices de conversión, y suelen manifestarse con pérdida de peso y retraso en el desarrollo. Debido a que son muy frecuentes en las explotaciones, en conjunto suponen mayores pérdidas económicas que las causadas por las coccidiosis clínicas (Fox, 1985). No obstante, los caprinos soportan razonablemente bien infecciones relativamente altas de eimerias, incluso en infecciones mixtas, sin manifestaciones clínicas ostensibles. Además, la mera presencia de especies patógenas de *Eimeria* no implica necesariamente la aparición de signos clínicos, lo que indica que otros factores, como el sistema de explotación, las condiciones ambientales (temperatura ambiente y humedad sobre todo), cambios de alimentación o de alojamiento, transportes u otras enfermedades de etiología parasitaria o infecciosa pueden ser decisivos en la manifestación de un cuadro clínico.

En relación con el **diagnóstico**, se debe tener en cuenta que ninguna de las manifestaciones clínicas anteriormente citadas es patognomónica, de manera que deben valorarse conjuntamente los resultados de la anamnesis, la clínica, la necropsia y los análisis coprológicos (Harper y Penzhorn, 1999). Además, es imprescindible valorar el estado sanitario del rebaño, más que de los individuos aisladamente.

En ausencia de otras infecciones de etiología parasitaria (*Cryptosporidium*, cestodosis, trematodosis y nematodosis gastrointestinales) o bacteriana (*E. coli*, *Clostridium* spp, *Fusarium* spp, *Salmonella* spp) y carencias minerales, debe sospecharse de eimeriosis cuando hay diarrea en corderos de 4-6 semanas, o en los de 3-5 meses concentrados en instalaciones de cebo. Generalmente, estos animales eliminan grandes cantidades de ooquistes por gramo de heces (opg), con predominio de una de las especies patógenas, aunque es frecuente las infecciones por 3 o más especies de *Eimeria*. Las elevadas eliminaciones de ooquistes ( $10^5$  opg) van acompañadas de la presencia de algunos deformados. No obstante, ha de tenerse en



cuenta que la eliminación de ooquistes decrece considerablemente en los individuos, tras haber alcanzado el máximo, y también que algunos animales eliminan hasta  $10^6$  opg sin manifestaciones clínicas (Blood y Radostits, 1989). En casos agudos pueden hallarse merozoítos en las deyecciones. Para realizar el análisis coprológico, las muestras de heces se deben tomar directamente del recto para evitar la contaminación con otros parásitos. Dependiendo de la consistencia de las heces, si su consistencia es normal se pueden introducir en un bote o guante de plástico, pero sí son diarreicas se aconseja tomarlas con ayuda de un hisopo que se introduce en su correspondiente frasco estéril; en ambos casos se deben rotular convenientemente. Se pueden almacenar en el frigorífico hasta su procesado, pero no más de 48 horas (Martínez-Fernández *et al.*, 1999). Según el manual de técnicas de Laboratorio Central Veterinario de Weybridge (M.A.F.F., 1986), la presencia de ooquistes en las heces demuestra que el animal está infectado. Para determinar el número de ooquistes por gramo de heces, cada muestra se debe analizar por duplicado mediante la técnica de flotación directa (Rojo *et al.*, 1997). El diagnóstico específico requiere el estudio de ooquistes esporulados, para ello las heces se mezclan con una solución de dicromato potásico al 2% y se incuban, a 25-28°C, durante 4-5 días.

En explotaciones intensivas puede convenir el sacrificio de algún animal enfermo para estudiar cuidadosamente el cadáver y realizar improntas o extensiones de raspados de las zonas intestinales afectadas, ya que para observar las diferentes fases del ciclo endógeno y realizar el diagnóstico específico es necesario el estudio de los ooquistes esporulados. Los animales afectados suelen presentar el intestino delgado dilatado, congestivo y con la mucosa inflamada, frecuentemente con hemorragias y exceso de mucus. Los macroesquizontes pueden apreciarse a simple vista como nódulos blanquecinos (Koudela y Boková, 1998). Microscópicamente pueden apreciarse cambios histológicos como hipertrofia, hiperplasia y/o fusión de las vellosidades intestinales e infiltración inflamatoria en la lámina propia; además, se pueden observar numerosos estadios de desarrollo del parásito en los enterocitos. La localización de las lesiones varía con la especie de *Eimeria*, aunque como se indicó son frecuentes las infecciones mixtas y, por ello, un cuadro superpuesto, al que nos referiremos desde el punto de vista macroscópico, puesto que el estudio anatomopatológico de las lesiones no es objeto de esta Tesis. *E. arloingi* causa edema de la mucosa del intestino delgado, congestión, hemorragias y úlceras. El contenido entérico es líquido y en la mucosa se advierten placas amarillas o blanquecinas ocasionadas por los macroesquizontes; también se

aprecia congestión y hemorragias capilares. Por el contrario, en las infecciones por *E. caprina* el intestino delgado no está afectado, mientras que se observan hemorragias en la segunda mitad del colon y en la parte anterior del recto, el cual aparece vacío de heces, pero contiene mucus y restos de sangre coagulada. *E. ninakohlyakimovae* causa engrosamiento de la pared cecal, petequias y leve congestión del colon.

Hasta hace relativamente poco tiempo, las infecciones por coccidios eiméridos en el ganado caprino no se consideraron de importancia, por lo que el número de estudios sobre estos protozoos en cabras son limitados en comparación a las publicaciones realizadas en otras especies de rumiantes domésticos (Ruíz *et al.*, 2013). En general, los **porcentajes de infección** por *Eimeria* descritos en este pequeño rumiante son muy elevados, superando en la mayoría de los casos el 85%. En España, los trabajos relativos a las infecciones por *Eimeria* en ganado caprino son escasos y la mayoría se han realizado por nuestro grupo de investigación (Cienfuegos *et al.*, 2009; Béjar, 2011; Alonso, 2016) comprobando que las infecciones por *Eimeria* spp son muy frecuentes (97-100%) y ampliamente distribuidas en ganado caprino en diferentes localidades gallegas. En otras Comunidades de España también se han observado prevalencias de *Eimeria* spp muy elevadas en caprino, oscilando entre el 96,1% de Gran Canaria (Ruíz *et al.*, 2006) y el 100% de Madrid (De la Fuente y Alunda, 1992). Los porcentajes de cabras infectadas con este coccidio son ligeramente superiores a los observados en ovinos; así, en ovejas explotadas en semiextensivo en diferentes localidades de Galicia, Pedreira *et al.* (2003), Cienfuegos *et al.* (2009) y Díaz *et al.* (2010) comprobaron que el 73%, el 94% y el 73%, respectivamente, eliminaban ooquistes de *Eimeria*. En animales en pastoreo semiextensivo de otras provincias españolas como Segovia, Burgos y Madrid, Ferre *et al.* (1991), Hidalgo *et al.* (1995) y Domínguez-Toraño *et al.* (2000) señalaron porcentajes de infección del 64-100%, del 98% y del 39,6%, respectivamente. En la provincia de León, Hidalgo y Cordero (1981, 1987) y Díez-Baños *et al.* (2006; 2009 b), comprobaron que prácticamente todos los ovinos (100% y 95%, respectivamente) eliminaban ooquistes de *Eimeria*.

En ganado caprino explotado en varios países europeos se han apreciado porcentajes muy elevados y superiores al 80% en todos los casos; la mayoría señalan prevalencias entre el 97,8% y el 99,6% en Inglaterra, Dinamarca, Portugal y Lituania (Norton, 1986; Holm *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014; Stadaliene *et al.*, 2014), mientras que Koudela y Boková (1998)

observaron un 92% de animales positivos en la República Checa y Balicka-Ramisz (1999) un 81% en Polonia.

En América, la mayoría de los trabajos se han realizado en los EE.UU., describiendo porcentajes de infección de 97-100% (Lima, 1980; Penzhorn *et al.*, 1994; Kahan y Greiner, 2013); en Brasil, Cavalcante *et al.* (2012) hallaron un 91,2% de cabras que eliminaban ooquistes del protozoo. En Australia, O'Callaghan (1988) también encontró una prevalencia muy elevada (97%). En diversos países asiáticos, como China, Malasia o Sri Lanka, el porcentaje de animales positivos osciló entre el 87,9% y el 89,2% (Jalila *et al.* 1998; Faizal y Rajapakse, 2001; Hashim y Yusof, 2016), mientras que en China y Turquía, Zhao *et al.* (2012) y Tölü y Savaş (2016) hallaron valores más elevados, de 97,3% y 98%, respectivamente. Por último, en África se han publicado numerosos estudios sobre las infecciones por *Eimeria* spp en ganado caprino, la mayoría señalando prevalencias superiores al 85% (Vercruysse, 1982; Chhabra y Pandey, 1991; Kusiluka *et al.*, 1996; Harper y Penzhorn, 1999).

Sólo unos pocos estudios muestran prevalencias inferiores al 80% en ganado caprino; así El Shahawy (2016) halló un 65,1% de animales positivos en Egipto, Abo-Shehada y Abo-Farieha (2003) un 54% en Jordania, Zvinorova *et al.* (2016) un 43% en Zimbabue y Krishnamurthy y Kshirsagar (1976) un 36% en la India, lo que aún así, pueden considerarse valores elevados.

En cuanto a la **intensidad de eliminación de ooquistes**, Béjar (2011) halló recuentos medios de 2.487 opg en cabras de raza gallega explotadas en Galicia; En otras regiones españolas, De la Fuente y Alunda (1992) hallaron medias que pueden considerarse elevadas (7.606 opg), mientras que en caprino de Gran Canaria, Ruíz *et al.* (2006) observaron que los recuentos oscilaban entre los 100 opg y los  $1,4 \times 10^6$  opg. En general, estos valores son más elevados que los hallados en ovino; así, en **Galicia**, Pedreira *et al.* (2003), Cienfuegos *et al.* (2009) y Díaz *et al.* (2010) señalaron cifras de eliminación de 350, 3.077 y 1.396 opg de *Eimeria*, respectivamente. En **España**, los valores medios de eliminación varían en las diferentes regiones. En ovinos explotados en pastoreo semiextensivo en las provincias de Burgos y Madrid, Hidalgo *et al.* (1995) y Domínguez-Toraño *et al.* (2000) hallaron cifras medias de eliminación de 788,4 y 272 opg respectivamente. En ovejas explotadas en régimen semiextensivo en la provincia de León, Hidalgo *et al.* (1997), señalaron valores medios de

eliminación elevados (2.062 opg). Por el contrario, Díez- Baños *et al.* (2006, 2009 b), también en ovinos en pastoreo en diferentes zonas de la provincia de León, hallaron cifras de eliminación mucho más bajas (100 y 89 opg).

Los principales **factores de riesgo** que intervienen sobre la prevalencia de infección por *Eimeria* spp. se han estudiado fundamentalmente en otras especies de rumiantes domésticos como ovejas y vacas, siendo mucho más escasos los trabajos realizados en cabras. Según Charlier y Paraud (2012), existen dos condiciones que favorecen la aparición de coccidiosis clínica: la ingestión de un elevado número de ooquistes esporulados procedentes de un ambiente muy contaminado y/o una mayor multiplicación del parásito en el hospedador debido a un descenso en la respuesta inmunitaria. Algunas medidas de manejo de animales y pastos (hacinamiento, cama húmeda, zonas embarradas, etc.) incrementan la contaminación del medio (Jalila *et al.*, 1998). Además, todos aquellos factores relacionados con las condiciones ambientales (frío, calor), nutrición (destete, destete precoz, malnutrición), transporte, etc., que causen estrés, interfieren con el normal funcionamiento del sistema inmunitario.

La influencia de la **edad de los animales** sobre la prevalencia e intensidad de eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp. es uno de los factores más estudiados. La gran mayoría de los autores consideran que existe una relación negativa entre la edad de las cabras y la prevalencia, de modo que los animales adultos muestran porcentajes de infección y cifras de eliminación de ooquistes significativamente más reducidos que los cabritos (Charlier *et al.*, 1991; Chhabra y Pandey, 1991; de la Fuente y Alunda, 1992; Penzhorn *et al.*, 1994; Borgsteede y Dercksdén, 1996; Kusiluka *et al.*, 1996; Koudela y Boková, 1998; Balicka-Ramisz, 1999; Harper y Penzhorn 1999; Faizal y Rajapakse, 2001; Abo-Shehada y Abo-Farieha, 2003; Hassum y Menezes, 2005; Ruíz *et al.*, 2006; Gwaze *et al.*, 2009; Cavalcante *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014; Zvinorova *et al.*, 2016). En este sentido, en un estudio realizado en Galicia en cabras de raza galega explotadas en semiextensivo, Béjar (2011) comprobó que tanto la prevalencia como la intensidad de eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp. era ligeramente superior en los animales jóvenes (100%;  $\bar{X}$ = 2.717 opg, DE 4.043) que en los adultos (95,8%;  $\bar{X}$ = 2.723 opg, DE 4.710). Del mismo modo, Abo-Shehada y Abo-Farieha (2003) hallaron que los animales menores de un año mostraban prevalencias y recuentos de

ooquistes en heces (66%; 1.422 opg, rango 50–18.200 opg) significativamente superiores que los adultos (49%; 714 opg, rango 50-8.000 opg). En ganado caprino de Canarias, Ruíz *et al.* (2006) observaron una reducción mucho más acusada, desde 46.496 opg en cabritos a 2.225 opg en adultos.

Según varios autores, los mayores porcentajes de infección y recuentos que presentan los jóvenes son consecuencia de una respuesta inmunitaria inadecuada frente a las primoinfecciones, y se deben, primeramente, al agotamiento de la inmunidad pasiva conferida por la madre mediante el calostro, lo que sucede aproximadamente a las 5 semanas de vida (Taylor, 2007), junto con la ausencia de inmunidad adquirida, lo que provoca que el pico máximo de eliminación de ooquistes aparezca durante el destete (Jalila *et al.*, 1998). Así, se ha estimado que los cabritos sanos menores de un año excretan, por lo general, cientos de miles de opg, mientras que los enfermos pueden eliminar cientos de miles o millones de opg (Lima, 1980; Norton, 1986). A partir de las 16 semanas de vida, los recuentos disminuyen de forma progresiva, indicando que los animales han desarrollado una respuesta inmunitaria celular adquirida, parcialmente protectora, consecuencia de exposiciones repetidas al parásito (De la Fuente y Alunda, 1992; Penzhorn *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2014). Esta respuesta inmunitaria protege a los animales frente a la aparición de coccidiosis clínica, pero no consigue interrumpir el ciclo interno del parásito, por lo que los animales continúan eliminando cifras bajas de ooquistes en heces, en torno a los 1.000-2.000 opg (Norton, 1986; Taylor y Catchpole, 1994; Silva *et al.*, 2014). Otros trabajos han señalado un ligero incremento en la intensidad de eliminación de ooquistes en los animales de mayor edad (de más de 4-7 años), sugiriendo un debilitamiento del sistema inmunitario del hospedador (Kanyari, 1988; De la Fuente y Alunda, 1992; Charlier y Paraud, 2012).

Además, se ha demostrado la existencia de una asociación entre ciertas especies de *Eimeria* y grupos de edad, de modo que *E. christenseni* predomina en los animales jóvenes mientras que *E. hirci* se halla con más frecuencia en los adultos (Hidalgo y Cordero, 1999). En un estudio posterior realizado en cabras en intensivo en Galicia, Alonso (2016) comprobó que *E. ninakohlyakimovae*, *E. alijevi* y *E. aspheronica* eran significativamente más frecuentes en los animales más jóvenes, mientras que en los adultos predominaban las infecciones causadas por *E. arloingi* y *E. christenseni*.

Varios autores han apreciado que determinadas **razas** de cabras mostraban cifras de prevalencia e intensidad de eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp. significativamente más elevadas que otras. Zvironova *et al.* (2016) señalaron que las razas autóctonas, tras repetidas reinfecciones, pueden presentar una inmunidad adquirida más potente frente a parásitos gastrointestinales. En este sentido, Chhabra y Pandey (1991) observaron que las razas caprinas autóctonas de Zimbabwe eran más resistentes a la coccidiosis que las cabras de raza Boer, mientras que Harper y Penzhorn (1999) señalaron que los cruces eliminaban cifras de ooquistes por gramo significativamente superiores a las mostradas por razas locales o cabras Saanen. Finalmente, Howe (1984) observó que las cabras de raza Angora eran más susceptibles a las infecciones por coccidios que las razas lecheras.

Con respecto a la posible influencia del **tamaño de la granja** sobre los porcentajes de infección y la intensidad de eliminación de ooquistes, los diversos estudios muestran grandes discrepancias, relacionadas fundamentalmente con diferencias en el manejo de los animales. Así, Zvironova *et al.* (2016) observaron mayores prevalencias en las granjas de pequeño tamaño, pues la alimentación era de peor calidad, los animales se encontraban hacinados y no se aplicaban medidas de control parasitario. En este mismo sentido, Ruíz *et al.* (2006) apreciaron que los animales pertenecientes a las granjas de mayor tamaño mostraban los menores recuentos de opg, lo que relacionaron con la aplicación de medidas de higiene más estrictas, así como a la realización de desparasitaciones periódicas con productos coccidicidas, como el diclazuril. Por el contrario, De la Fuente y Alunda (1992) constataron que los cabritos de las granjas de mayor tamaño presentaban una mayor intensidad de eliminación de ooquistes, consecuencia de un mayor grado de hacinamiento; estos autores, sin embargo, no excluían la posibilidad de que estas diferencias se debieran al diferente potencial biótico de las especies de *Eimeria* más prevalentes en cada granja.

Al considerar otro factor relacionado con la estructura y manejo de los rebaños, López *et al.* (2013) comprobaron que, en los **rebaños de ovejas, la presencia de cabras** incrementaba el riesgo de infección por *Eimeria* para éstas últimas.

La mayoría de los análisis de factores que suponen un mayor riesgo de infección por *Eimeria* spp en rumiantes han identificado el **tipo de explotación** como una de las variables de mayor importancia, junto con la edad de los animales. Así, los autores coinciden en señalar



que las infecciones por *Eimeria* son más frecuentes en granjas en las que los animales se explotan en intensivo (O'Callaghan, 1989; Catchpole *et al.*, 1993; Chibunda *et al.*, 1997; Jalila *et al.*, 1998; Matjila y Penzhorn, 2002; Abo-Shehada y Abo-Farieha, 2003; Dauschies y Najdrowski, 2005; Hashim y Yusof 2016). En cabras jóvenes de Sudáfrica, Harper y Penzhorn (1999) observaron recuentos significativamente superiores en los animales en intensivo (media de 61.000 opg) que en aquellos manejados en régimen extensivo (13.000-15.000 opg). Este mayor riesgo lo achacan a una mayor densidad de animales y a peores condiciones higiénico-sanitarias propios de este tipo de régimen de explotación.

Charlier y Paraud (2012) consideran el nivel de intensificación y una elevada densidad de animales dentro de las instalaciones factores predisponentes para la aparición de coccidiosis clínica. En este mismo sentido, Hidalgo y Cordero (1999) señalaron que cuando los cabritos se mantienen estabulados y están hacinados, aumenta la prevalencia de infección por *Eimeria*. En relación con la densidad de animales, Hashim y Yusof (2016) apreciaron que en las granjas semiextensivas y extensivas, cada cubículo estaba ocupado por menos de 10, mientras que en las intensivas la densidad aumentaba hasta los 15-20 animales, lo que favorece el contacto entre animales y la contaminación del medio. Silva *et al.* (2014) también señalan que el hacinamiento causa estrés, afectando de forma negativa al sistema inmunitario del animal. En Australia, O'Callaghan (1989) observó una menor prevalencia de *Eimeria* spp. en ganado caprino en régimen extensivo, puesto que la densidad de los animales en los pastos era menor que en las explotaciones y, además, las condiciones climatológicas del exterior (escasas precipitaciones y temperaturas elevadas) reducían la supervivencia de los ooquistes. En este mismo sentido, Abo-Shehada y Abo-Farieha (2003) señalaron que, en ganado caprino de Jordania, las coccidiosis clínicas aparecen con mayor frecuencia durante el invierno, donde los animales se mantienen en el interior de las granjas, alcanzando un elevado grado de hacinamiento.

Por otro lado, mantener a los animales estabulados en régimen intensivo suele estar asociado con peores condiciones higiénicas, lo que incrementa la contaminación ambiental y la presión de infección, y por lo tanto, el riesgo de infección por *Eimeria* spp. (Schillhorn van Veen, 1986; Jalila *et al.*, 1998; Charlier y Paraud, 2012). Por ello, la aplicación de adecuadas medidas de limpieza e higiene reduce la transmisión de estos coccidios y, por ello, la prevalencia de infección (Foreyt, 1990). Así, cuando la contaminación ambiental es más reducida, los animales se exponen al parásito gradualmente, siendo capaces de desarrollar una

respuesta inmunitaria protectora eficaz (Jalila *et al.*, 1998). Un buen diseño y mantenimiento del suelo de las instalaciones permite reducir la acumulación de heces en los cubículos, siendo muy adecuado el empleo de emparrillados ligeramente elevados, lo que permite una fácil eliminación de las cagarrutas (Jalila *et al.*, 1998).

Por el contrario, Koudela y Boková (1998) y Ruíz *et al.* (2006) no observaron una asociación significativa entre el tipo de manejo y la prevalencia e intensidad de eliminación de *Eimeria* spp.

Respecto a las **condiciones ambientales**, De la Fuente y Alunda (1992) señalan que pueden afectar de forma significativa la supervivencia e infectividad de los ooquistes, y por tanto, la contaminación del medio. Pout (1969) y Vercruysse (1982) apreciaron que los ooquistes se inactivan por desecación o por la exposición solar directa o a elevadas temperaturas. En este sentido, se ha comprobado que los ooquistes eliminados con las heces necesitan que la temperatura oscile entre 18 y 27°C para esporular, siendo capaces de resistir mejor las bajas temperaturas que las más elevadas (Alunda *et al.*, 1996; Hidalgo y Cordero, 1999; Díez-Baños *et al.*, 2003), y pudiendo permanecer infectantes durante más de un año a 4°C (Daugischies y Najdrowski, 2005). En este sentido, varios autores han observado una correlación positiva entre la temperatura y la intensidad de eliminación de ooquistes (Balicka-Ramisz, 1999; Harper y Penzhorn, 1999; Ruíz *et al.*, 2006), lo que puede deberse a la notable influencia de la temperatura sobre los porcentajes de esporulación de los ooquistes, siendo esta asociación positiva (de Graaf *et al.*, 1999). Así mismo, en zonas áridas o semiáridas, en donde la humedad limita la supervivencia de los ooquistes, la prevalencia e intensidad de infección de los animales explotados en pastoreo semiextensivo es baja (Hidalgo y Cordero, 1999). De hecho, se ha comprobado que la humedad elevada o las precipitaciones abundantes parece ser factores de gran importancia para que los animales presenten elevados porcentajes de infección y recuentos de ooquistes por gramo de *Eimeria* (Kasim y Al-Shawa, 1984; O'Callaghan, 1989; Ramajo *et al.*, 1995; Harper y Penzhorn, 1999; Waruiru *et al.*, 2000; Matjila y Penzhorn, 2002; Taylor *et al.*, 2007); además, estos autores afirman que cuando la humedad es elevada, los animales permanecen mayor tiempo confinados en las instalaciones, lo que constituye un factor de riesgo, puesto que la presión de infección dentro de la explotación es más elevada (mayor concentración de ooquistes en el medio) y, en consecuencia, los animales eliminan mayor número de opg (Daugischies y Najdrowski, 2005).



En cabras de raza galega, Béjar (2011) comprobó que en los animales que pastaban en la zona Centro, donde se dan condiciones climáticas más adecuadas para la supervivencia de los ooquistes en el medio, la intensidad de eliminación era significativamente superior ( $4.307 \pm 5.307$  opg) que en aquellos de la zona de montaña ( $1.567 \pm 1.838$  opg). Del mismo modo, en ganado ovino explotado en semiextensivo en Galicia, Cienfuegos *et al.* (2009) comprobaron que aunque la prevalencia de infección era similar en primavera (91,6%) que en otoño (96,6%); sin embargo, las cifras medias de eliminación eran netamente superiores en el otoño (3.077 opg) que en primavera (1.150 opg).

También se ha señalado que las **infecciones concomitantes** con otros procesos parasitarios (helminiosis, sarnas, etc.) o infecciosos (neumonía, ectima contagioso, etc.) pueden estar asociados a procesos más severos, con mayores recuentos de ooquistes en heces, relacionados con importantes porcentajes de mortalidad (Catchpole y Harris, 1989; Jalila *et al.*, 1998). Entre los helmintos, se han descrito correlaciones positivas entre la intensidad de eliminación de *Eimeria* spp y de varios nematodos, como *Haemonchus contortus*, *Nematodirus battus* o *Strongyloides* spp. (Charlier y Paraud, 2012).

### 1.2.2. Cestodos

*Moniezia expansa* es el principal cestodo que parasita al ganado ovino y caprino (Ramajo y Muro, 1999), mientras que *M. benedeni* es más específico del vacuno. Los adultos son inermes, de gran tamaño y se localizan en el intestino de los hospedadores definitivos (HD). Los proglotis maduros se desprenden, aislados o en grupos, y se eliminan con las heces del animal infectado. En el medio ambiente, y tras un período de maceración, se liberan los huevos, que son ingeridos por un ácaro perteneciente a la familia Oribatoidea, que actúa como hospedador intermediario (HI). En la cavidad abdominal de este ácaro coprófago se forma un cisticercoide y el ciclo se cierra cuando los ingiere un HD.

Son muy escasos los estudios realizados sobre las infecciones por este cestodo en ganado caprino. Béjar (2011) en cabras de raza galega explotadas en semiextensivo en Galicia, comprobó que el 19,3% eliminaban huevos de este cestodo, siendo las cifras medias de hpg de 222, D.E. 242. En ganado caprino las prevalencias encontradas varían entre niveles bajos — 2,63%, Gupta *et al.* (2013), en la zona de Jabalpur, India— hasta muy altos —47,27%,

Bulbull *et al.* (2011), en la región de Assam, también en la India—. Las condiciones climáticas ejercen una gran influencia sobre la prevalencia (Bulbull *et al.*, 2011), siendo mucho más elevada en la época del monzón que en la época seca.

En **España**, en animales en pastoreo en diferentes localidades de la provincia de Segovia, Ferre *et al.* (1991) comprobaron que el 7% de los ovinos excretaban huevos de *Moniezia*. En la provincia de Burgos, Hidalgo *et al.* (1995) señalaron que el porcentaje de ovinos que eliminaban huevos era del 15,4%, siendo las cifras medias de excreción de  $21,3 \pm 4,9$  hpg. En la provincia de León, Díez-Baños *et al.* (2006) observaron que el porcentaje de ovinos que excretaban huevos de *Moniezia* era del 6,3%.

En **Galicia**, Pedreira *et al.* (2001 b) comprobaron que únicamente el 0,3% de los ovinos en pastoreo en diferentes localidades eliminaban huevos de *Moniezia* y señalaron que en el 87,5% de las explotaciones había algún animal que eliminase huevos de este cestodo. Posteriormente, Cienfuegos *et al.* (2009) observaron que el 12,7% de los animales eliminaban cifras medias de 129 hpg; mientras que en otras zonas de Galicia, Dacal *et al.* (2009) señalaron que el 5,1% de los ovinos eliminaban 213 hpg.

Respecto a los **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia y las cifras medias de eliminación de *Moniezia*, Béjar (2011) comprobó que el sexo, la edad y la zona en la que pastaban las cabras de raza galega tenían una cierta influencia sobre la prevalencia y las cifras medias de eliminación.

Respecto al **sexo**, Béjar (2011) observó que ambos parámetros eran superiores en las hembras (20%;  $\bar{x} = 228 \pm 246$ ) que en los machos (10%;  $\bar{x} = 97$ ), aunque estas diferencias carecieron de significación estadística.

En relación con la **edad**, Béjar (2011) comprobó que los animales jóvenes (199; D.E. 118) eliminaban cifras medias superiores a los adultos (313; D.E. 413), pero similares a los más viejos (178; D.E. 87). Así mismo, observó que en relación con la **zona** en la que se mantenían las cabras, las de la zona centro eliminaban cifras más elevadas (239; D.E. 87) que las de la montaña (205; D.E. 338) y que estas diferencias eran significativas ( $F = 5,167$ ;  $p = 0,034$ ). Estas diferencias las atribuyó al hecho que al intervenir los ácaros oribátidos como hospedadores intermediarios, estos serían más abundantes en la zona centro, en la que las condiciones de temperatura y humedad son más adecuadas que en la montaña (Béjar, 2011).

En **ganado ovino** en pastoreo en diferentes localidades de la provincia de Segovia, Ferre *et al.* (1991), encontraron porcentajes de parasitación por huevos de este cestodo ligeramente superiores en los adultos (7,14%) que en los jóvenes (6,54%). En Galicia, Dacal *et al.* (2009), observaron que el porcentaje de infección era ligeramente superior en los animales más jóvenes.

### 1.2.3. Trematodos

*Fasciola hepatica* y *Dicrocoelium dendriticum* son las principales especies de trematodos hepáticos que afectan a los rumiantes en España; también tienen gran importancia los trematodos ruminales de la familia Paramphistomidae, entre los que destacan *Paramphistomum* y *Calicophoron*.

#### 1.2.3.1. *Fasciola hepatica*

El ciclo biológico de este trematodo es indirecto. Los rumiantes se infectan al ingerir las metacercarias junto con las plantas a las que se encuentran adheridas. El desenquistamiento de las metacercarias se produce en dos fases; la primera tiene lugar en el rumen y la segunda en el intestino delgado; posteriormente las adolescarias o fasciolas inmaduras atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal y desde allí llegan al hígado. Durante algo menos de dos meses, el parásito migra por el parénquima hepático asentándose definitivamente en los conductos biliares del hígado y, aproximadamente a los 40 días post-infección (pi), se transforman en adultos sexualmente maduros que eliminan los huevos junto con las heces de los HD. Los primeros huevos se observan al cabo de 55-60 días después de la ingestión de las metacercarias (Rojo *et al.*, 2003).

En lugares húmedos y con una temperatura adecuada se desarrolla el miracidio, que penetra en un pequeño caracol acuático, generalmente del género *Galba* (= *Lymnaea*), en cuyo interior se suceden los estadios de esporocisto, redia y cercaria; esta última abandona el caracol, nada activamente y se enquistas en la hierba transformándose en metacercaria, que es la fase infectante y cuando esta es ingerida por los HD, entre los que se encuentra el ganado ovino y caprino, se inicia un nuevo ciclo biológico.

La fasciolosis es una de las infecciones parasitarias más frecuentes y de mayor trascendencia económica en los rumiantes, en especial en los lugares en los que las

condiciones edáficas y climáticas favorecen el desarrollo del ciclo de *F. hepatica*, como sucede en Galicia.

Los métodos más utilizados para el diagnóstico directo de las infecciones por este trematodo hepático son el examen coprológico y el *postmortem*, aunque en los últimos años se han puesto a punto técnicas para detectar antígenos (ELISA) en heces, sangre e incluso en leche en los animales infectados. La coprología es la técnica que se utiliza habitualmente para el diagnóstico de las infecciones por *F. hepatica*. Entre sus ventajas destaca su especificidad, si bien uno de sus mayores inconvenientes es que los huevos se observan en heces 10-12 semanas después de la infección, es decir, cuando las fasciolas han alcanzado a su madurez sexual y ya se han producido gran parte de las lesiones hepáticas en el animal (Rodríguez-Pérez and Hillyer, 1995; Rojo y Ferre, 1999; Rojo *et al.*, 2003). Un examen coprológico negativo carece de valor predictivo, ya que este puede ser negativo por múltiples causas y, sin embargo, el animal estar parasitado. Serían precisos al menos 3 exámenes coprológicos sobre muestras recogidas en días alternos para descartar la infección del animal. Debido a las variaciones considerables en la eliminación diaria de huevos de *F. hepatica* en el ganado ovino (Düwell y Reisenleiter, 1984), recomiendan la recogida de muestras a partir del mediodía, y siempre a la misma hora.

Se ha comprobado que la receptividad de los HD varía, siendo en el ganado ovino, caprino y en los lagomorfos donde existe una alta productividad parasitaria y una marcada patogenicidad (Rojo y Ferre, 1999). Además, según Afshan *et al.*, (2013), en general, la **prevalencia de infección** es significativamente superior en las ovejas (28,43%) que en las cabras (5,01%). Estos autores señalaron que estas diferencias se pueden atribuir a los diferentes comportamientos de las ovejas y cabras a la hora de pastar, ya que las ovejas pastan cerca de zonas húmedas, mientras que las cabras tienen tendencia al ramoneo en zonas más secas. En este sentido, Gorski *et al.* (2004) señalaron prevalencias de infección del 10,9% en ganado ovino y, por el contrario, no detectaron cabras que eliminasen huevos de *F. hepatica*.

Asimismo, en ambas especies de rumiantes la prevalencia de infección varía mucho dependiendo del país en el que se hayan realizado los estudios. En Méjico (Estado de Sonora), Munguía-Xóchihua *et al.* (2007) señalaron prevalencias de infección del 8,7% y 23,4% en ovino y del 21,8 y 27,4% en cabras. En Pakistán, Gadahi *et al.* (2009) observaron que el

4,44% de las ovejas y el 0,66% de las cabras eliminaban huevos de *F. hepatica*. Asimismo, en este país, Khan *et al.* (2010) obtuvieron una prevalencia del 7,02% en ovejas y del 7,58% en las cabras. Posteriormente, Lashari y Tasawar (2011) comprobaron que el 21,41% de los ovinos eliminaban huevos de este trematodo.

En los diferentes países europeos la prevalencia de infección también varía considerablemente de unos a otros. En Gran Bretaña y Yugoslavia, Ollerenshaw y Rowlands (1959) y Savin *et al.* (1978), respectivamente, señalaron prevalencias del 80-85% en ganado ovino. En Italia, concretamente en el sur de los Apeninos, (Cringoli *et al.*, 2002) comprobaron que en el 4,1% de las explotaciones de ganado ovino había algún animal que eliminase huevos de *F. hepatica*.

En **España** también se han observado diferencias en la prevalencia de infección en el ganado ovino según pastaran en unas zonas u en otras, siendo más elevadas en el Norte que en el Centro y Sur de la Península. Así, García y Juste (1987), en el País Vasco, observaron que el 62,9% de las ovejas eliminaban huevos de *F. hepatica*, mientras que estas prevalencias resultaron inferiores en León (14,7%; 12%; 9,3%), Segovia (0,5%), Salamanca (9,3%), Cáceres (3,3%) y Granada (9,7%) según diferentes autores (Manga *et al.*, 1990; Ferre *et al.*, 1995; Díez-Baños *et al.*, 2006; Ferre *et al.*, 1991; Simón y Ramajo, 1985; Reina *et al.*, 1987 y Peinado *et al.*, 1989, respectivamente). Sin embargo, el porcentaje de explotaciones en las que había algún animal que eliminase huevos de este trematodo resultó más elevado tanto en Galicia (78,1%) como en Castilla y León (59,3%) (Díez-Baños *et al.*, 1989 c; Martínez-Valladares *et al.*, 2013, respectivamente).

En **Galicia**, Vázquez *et al.* (2008) y Cienfuegos *et al.* (2009b) señalaron que entre el 6 y el 9,5% de las ovejas eliminaban huevos de *F. hepatica*, mientras que Cienfuegos *et al.* (2009a) y Béjar (2011) en un estudio en cabras en la misma zona no hallaron animales infectados. En un estudio posterior, Alonso (2016) observaron que solo el 1,9% de las cabras mantenidas en semi-extensivo eliminaban cifras medias de hpg que pueden considerarse bajas (33,3; D.E. 26,02).

En cabras mantenidas en semiextensivo en Galicia, Pérez-Creo *et al.* (2016b) mediante un ELISA de captura (MM3-SERO) comprobaron que el 22,7% de los animales presentaban anticuerpos frente a *F. hepatica* y que en el 57,4% de los rebaños había alguna cabra seropositiva a este trematodo.

Respecto a las **cifras medias de eliminación**, no hemos hallado referencias en otros países europeos. En **España**, Hidalgo *et al.* (1995) en ganado ovino explotado en la provincia de Burgos obtuvieron una media de eliminación de 4,5 hpg (DE 1,1). En ovinos en pastoreo en diferentes lugares de la provincia León y de la Cordillera Cantábrica, Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b) hallaron cifras medias de eliminación de 60 y 78 hpg, respectivamente.

En Galicia, diversos autores (Sánchez-Andrade *et al.*, 2001b; Vázquez *et al.*, 2008; Arias *et al.*, 2009 y Cienfuegos *et al.*, 2009a) observaron eliminaciones medias que se pueden considerar entre moderadas y altas (120-897; 112; 174-269 y 114 hpg, respectivamente); sin embargo, Pedreira *et al.* (2003) obtuvieron valores medios de excreción netamente inferiores.

Existen diferentes **factores epidemiológicos** que pueden afectar de forma muy notable al ciclo *F. hepatica*. Entre los factores intrínsecos o derivados del hospedador se encuentran la raza, sexo, edad y la respuesta inmune del hospedador; mientras que entre los extrínsecos se incluyen las condiciones climáticas y edáficas, que influyen sobre la supervivencia de las fases libres (huevos, miracidios y metacercarias), al igual que favorecen la presencia del hospedador intermediario (*G. truncatula*).

En relación con la **raza**, en un estudio realizado en pequeños rumiantes de Pakistán, Afshan *et al.* (2013) observaron que en las razas autóctonas de cabras (Local Hairly o Beetal) y de ovejas (Salt Range) la prevalencia de infección de *F. hepatica* era menor que en los cruces. Preston y Allonby (1979), al igual que Roberts *et al.* (1997a, b), señalaron que las diferencias en la prevalencia por diversos helmintos en distintas razas de ovejas podrían tener una base genética, relacionada con genes de dominancia incompleta, al encontrar diferencias entre razas de ovejas sometidas a iguales condiciones de manejo. En cabras de raza “Galega”, Pérez-Creo *et al.* (2016b), mediante ELISA de captura, se constató que esta raza es menos sensible a las infecciones por *F. hepatica* que las cabras procedentes de cruces, probablemente debido a su mayor rusticidad y adaptación al medio.

Respecto al **sexo**, la mayoría de los autores (Pal y Qayyum, 1992; Valcárcel y García Romero, 1999; Phiri *et al.*, 2005a, b; Khan *et al.*, 2009) coinciden en señalar que el sexo de los animales influye sobre la prevalencia de infección por diversos endoparásitos, ya que el estrés al que se ven sometidas las hembras durante la gestación y el parto produce un



descenso del estado inmunitario. En este sentido, en vacuno de Zambia y Pakistán, diferentes autores (Phiri *et al.*, 2005a, b; Khan *et al.*, 2009, 2010) comprobaron que, aunque el manejo de los machos y de las hembras fuera similar, estas últimas presentaban mayor prevalencia e intensidad de infección. Sin embargo, Pérez-Creo *et al.* (2016b), en cabras de raza “Cabra Galega”, mediante ELISA de captura, comprobaron que la edad de los animales no era un factor de riesgo en las infecciones por *F. hepatica*.

Así mismo, respecto a la **edad**, en ganado vacuno diversos autores (González-Lanza *et al.*, 1989; Sánchez-Andrade *et al.*, 2002) han señalado que existe una correlación positiva entre ésta y la prevalencia de infección por *F. hepatica*, debido a que los animales más jóvenes, al haber permanecido menor tiempo en los pastos, habían tenido menos oportunidades de infectarse que los de mayor edad. En ovejas y cabras explotadas en México, Munguía *et al.* (2007) observaron mayores porcentajes de seroprevalencia en los animales mayores de 6 años (46,6%) que en los menores de 5 (34,6%).

Gebeyehu *et al.* (2013), mediante ELISA indirecto, no detectaron ningún animal seropositivo en cabras menores de 2 años, siendo la seroprevalencia de 1,6% en animales mayores de esta edad. Afshan *et al.* (2013) en Pakistán, mediante ELISA y coprología, observaron que las ovejas mayores de dos años presentaban mayores prevalencias de infección por *F. hepatica* que las de menor edad. Por el contrario, Khan *et al.* (2010) en ovejas y cabras explotadas en Pakistán, no observaron diferencias significativas entre los animales jóvenes (< de 6 meses) y los adultos (> de 6 meses).

En **ganado ovino** también se ha observado esta correlación; de hecho, Ferre *et al.* (1991), en ovejas de la provincia de Segovia, observaron que los animales que habían pastado sólo una temporada no eliminaban huevos de *F. hepatica* mientras que un pequeño porcentaje (0,9%) de los que lo habían hecho durante 2 o más temporadas sí lo hacían. Asimismo, Vázquez *et al.* (2008) y Paineira (2012) señalaron que la prevalencia de infección por *F. hepatica* era superior en los animales de mayor edad, aunque estas diferencias no fueron significativas.

Pérez-Creo *et al.* (2016 b), en la raza autóctona “Cabra Galega”, mediante ELISA de captura, comprobaron que la edad de los animales era un factor determinante constatando que la seroprevalencia se incrementaba en los animales de mayor edad, lo que evidencia la falta de respuesta inmune protectora frente a *F. hepatica* en el ganado ovino y caprino.

Otro factor determinante es el **régimen de explotación**, ya que los animales en pastoreo extensivo o semi-extensivo presentan prevalencias de infección más elevadas que los mantenidos en un régimen intensivo (Sánchez-Andrade *et al.*, 2001). Esto se debe a que los sistemas extensivo y semi-extensivo favorecen el contacto del hospedador definitivo con el parásito, y por tanto la ingestión de metacercarias en el pasto.

Respecto al **tamaño de las explotaciones**, en cabras de raza Galega, Pérez-Creo *et al.* (2016b) comprobaron que la seroprevalencia de *F. hepatica* era significativamente superior en las explotaciones pequeñas, debido a que se utilizan métodos de manejo tradicionales y no se aplican medidas adecuadas de control y prevención de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Así mismo, estos autores, constataron que la **presencia de cabras en los rebaños de ovejas** incrementaba significativamente la seroprevalencia de infección por este trematodo, probablemente debido a que en los rebaños mixtos se realiza un control sanitario menos estricto.

En relación con la influencia de las **condiciones climáticas y de la zona**, se ha comprobado que la temperatura y, sobre todo, la humedad y/o las precipitaciones, que permiten la supervivencia de los huevos en el exterior y propician la presencia de hospedadores intermediarios, son los factores más determinantes. En este sentido, diversos autores (Díez-Baños *et al.*, 1989 b, c; Rojo y Ferre, 1999; Abrous *et al.*, 1999; Arias *et al.*, 2011; Otranto and Traversa, 2003; Paz-Silva *et al.*, 2003; Silvestre *et al.*, 2000; Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000) han señalado que las infecciones por *Fasciola* son enzoóticas en áreas donde haya elevadas precipitaciones anuales y terrenos mal drenados, ya que constituyen el hábitat idóneo para *G. truncatula*. No obstante, también se ha comprobado que en la prevalencia de infección por *F. hepatica*, más que de las condiciones climáticas registradas ese año, influyen las del año anterior (Rojo-Vázquez *et al.*, 1989; González-Lanza *et al.*, 1989; Manga-Gonzalez *et al.*, 1991; Sánchez-Andrade *et al.*, 1995; Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000; Arias *et al.*, 2011). Por el contrario, Pérez-Creo *et al.* (2016 b), en cabras de raza “Cabra Galega”, observaron que la edad de los animales no influía significativamente sobre la seroprevalencia de *F. hepatica*.



### 1.2.3.2. Anfistomas

Estos trematodos se conocen también con el nombre Paranfistomas. Los trematodos pertenecientes a la Subfamilia Paramphistominae (géneros *Paramphistomum*, *Explanatum*, *Cotylophoron* y *Calicophoron*) se localizan, en su forma adulta, en el rumen de los rumiantes hospedadores definitivos, y con menor frecuencia, en el retículo, donde eliminan huevos que salen al exterior con las heces del animal.

La similitud entre la fase externa del ciclo de los paranfistómidos y de la de *F. hepatica* es tal que, en Europa, según diversos autores (Muro y Ramajo, 1999; Silvestre *et al.*, 2000; Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000) comparten el mismo hospedador intermediario; además, según Muro y Ramajo (1999) también pueden actuar como hospedadores intermediarios moluscos de las familias Planorbidae y Bulinidae, aunque los caracoles de estas 2 familias son más frecuentes en África, Asia y Australia. Tras la ingestión de las metacercarias infectantes que se encuentran en la hierba, éstas se desenquistan en el duodeno, liberando las adolescarias que se fijan a la mucosa, produciendo los daños más graves. A partir de 6-8 semanas regresan al abomaso y posteriormente al rumen, donde se asientan definitivamente entre las microvellosidades, para madurar 3-4 semanas después.

Aunque tradicionalmente los anfistómidos se han considerado parásitos poco patógenos, la paranfistomosis es una enfermedad que puede causar serias pérdidas económicas a la industria láctea y cárnica, que se han estudiado con mayor profundidad en el ganado vacuno (Castro-Trejo *et al.*, 1990); no obstante, varios autores señalan que es una parasitosis a la que no se le ha prestado la debida atención (Castro-Trejo *et al.*, 1990; Mage *et al.*, 2002), ya que no suele cursar con sintomatología evidente, aunque cargas parasitarias elevadas pueden comprometer el estado nutricional, la producción y el crecimiento de los animales (Padungtod *et al.*, 2001).

Los trabajos realizados sobre los anfistomas en pequeños rumiantes, prácticamente se han realizado en ganado ovino y no se han hallado referencias en las que se haga alusión a la posible influencia de los factores de riesgo sobre estos trematodos ruminales.

Respecto a la **prevalencia de eliminación**, en **Europa**, Cringoli *et al.* (2004) en ovinos en pastoreo en los Apeninos Italianos señalaron que en el 16,2% de los rebaños había animales que eliminaban huevos de *C. daubneyi*, siendo las cifras medias de eliminación de 52 hpg. En **España**, Vázquez *et al.* (2008) observaron, por primera vez, huevos de

*Calicophoron* en ovinos en pastoreo en Galicia, señalando una de infección individual del 0,7% y del 8,5%, al considerar la prevalencia por explotación; asimismo, Cienfuegos *et al.* (2009b) hallaron una prevalencia individual del 1,1%. Por el contrario, en ganado caprino mantenido en pastoreo en Galicia, no se han hallado eliminaciones de huevos de estos trematodos (Bejar, 2011; Alonso, 2016)

En relación con las **cifras medias de eliminación**, Vázquez *et al.* (2008) y Cienfuegos *et al.* (2009b), en ganado ovino en pastoreo en Galicia, obtuvieron cifras medias de eliminación de 68 y 185 hpg, respectivamente.

#### 1.2.3.3. *Dicrocoelium dendriticum*

Los adultos de este trematodo se alojan en los conductos biliares y vesícula biliar; después de la fecundación, los huevos embrionados desde los conductos biliares pasan al intestino a través del conducto colédoco, para ser eliminados con las heces de los hospedadores definitivos (rumiantes domésticos y silvestres y otras especies de mamíferos). La fase exógena del ciclo biológico se inicia con la expulsión de los huevos con las heces de las cabras. Estos son operculados, de pared gruesa y color marrón oscuro con dos manchas grandes más intensas, que corresponden a las masas germinales. La eclosión del huevo y la liberación del miracidio únicamente tiene lugar en el tubo digestivo del primer H.I., que son moluscos gasterópodos pulmonados terrestres; el miracidio se transforma en esporocistos y finalmente en cercarias que, una vez maduras, alcanzan la cámara respiratoria del molusco, donde son recubiertas por mucus formando pequeñas esférulas que contienen un número elevado de cercarias y constituyen la bola de mucus que recién emitida tiene color blanco brillante; mediante los movimientos respiratorios del caracol, las bolas de mucus son expulsadas al exterior por el pneumostoma (orificio respiratorio) y al desplazarse el caracol se depositan sobre las plantas.

Cuando las bolas de mucus son ingeridas por distintas especies de hormigas de la Familia Formicidae, las cuales actúan como segundos H.I., las cercarias atraviesan el buche de las hormigas y se transforman en metacercarias; una de éstas o a veces 2 ó 3, llamada «larva cerebral», se aloja en el ganglio subesofágico de la hormiga y el resto de las metacercarias, con pared quística más consistente, se alojan en el abdomen. Al descender la temperatura, la

metacercaria (o metacercarias) alojada en el ganglio subesofágico altera el comportamiento de la hormiga, al provocar en ella una parálisis de los músculos mandibulares (tetania), lo que hace que se fije a la hierba y así se facilita la ingestión por los H.D. (Manga y Quiroz, 1999; Rojo *et al.*, 2003).

Según Rojo (1986) y Otranto y Traversa (2003), la dicroceliosis es asintomática, generalmente enmascarada por los efectos patógenos de otras enfermedades; además, las pérdidas económicas son menos evidentes que las causadas por otros trematodos, como *F. hepatica*, por lo que a las infecciones por *D. dendriticum* no se les ha concedido la importancia real que tienen.

En **ganado ovino** en pastoreo el **porcentaje de infección** varía en los diversos países europeos. En la región Emmental (Suiza), Burger *et al.* (2002), comprobaron que el 30% de los animales eliminaban huevos de este trematodo. En Italia, en la región de Emilia-Romagna, Pavoncelli y Tampieri (1978), observaron que la prevalencia de infección individual era muy elevada (90%) mientras que al considerar las explotaciones, el porcentaje era del 100%. En el Sureste de los Apeninos italianos, Cringoli *et al.* (2002) comprobaron que el 16% de los animales eliminaban huevos de *D. dendriticum* y que el porcentaje de granjas positivas era del 67,5%. En Cerdeña, Sánchez-Andrade *et al.* (2003) encontraron que en el 24% de las granjas había animales que eliminaban huevos, aunque la prevalencia individual fue netamente inferior (7%).

En **España**, en ganado ovino en pastoreo en las provincias de Segovia y de Burgos, Ferre *et al.* (1991) e Hidalgo *et al.* (1995) señalaron prevalencias de eliminación del 7 y 43%, respectivamente. En la provincia de León, Manga-González *et al.* (1991) comprobaron que el 63,6% de los ovinos en pastoreo en la cuenca del río Porma, eliminaban huevos de *D. dendriticum*; posteriormente, Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b), en animales explotados en diferentes zonas de la provincia leonesa, encontraron una prevalencia de infección del 15 y 12%, respectivamente. Ferre *et al.* (1991), también en ovejas de la provincial de León, citaron una prevalencia individual del 26,7% y del 47,4% al tener en cuenta las explotaciones.

En ganado ovino explotado en Galicia, Vázquez *et al.* (2008) y Cienfuegos *et al.* (2009b), señalaron una prevalencia de infección individual del 0,7%; además, Vázquez *et al.* (2008) comprobaron que en el 12% de las granjas había animales que eliminaban huevos de *D.*

*dendriticum*. Por el contrario, en cabras de raza Galega o en otras procedentes de cruces, no se observaron huevos de *D. dendriticum* (Béjar, 2011; Alonso, 2016).

Respecto a las **cifras medias de eliminación**, también halladas en **ganado ovino** en pastoreo en sureste de los Apeninos Italianos, Cringoli *et al.* (2002) señalaron valores medios de 98 hpg. En **España**, en ganado ovino en pastoreo en las provincias de Burgos y León, Hidalgo *et al.* (1995), Manga *et al.* (1991) y Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b) señalaron cifras medias de eliminación de 26,4; 323; 62 y 61 hpg, respectivamente.

En **Galicia**, Vázquez *et al.* (2008) y Cienfuegos *et al.* (2009b), indicaron valores medios de eliminación de 76 y 55 hpg, respectivamente.

Son muy escasos los trabajos realizados sobre los **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia e intensidad de eliminación de huevos de *D. dendriticum*, Eckert y Hertzberg, (1994) y Otranto y Traversa, (2002) señalaron mayor prevalencia de infección en los adultos, debido a que no se establece una respuesta inmunitaria protectora. En **ganado ovino** en pastoreo en el sureste de los Apeninos italianos, Cringoli *et al.* (2002) no observaron diferencias significativas entre la prevalencia de infección por *D. dendriticum* al tener en cuenta la edad de los animales. En ovinos en pastoreo en la provincia de Segovia, Ferre *et al.* (1991) señalaron que el porcentaje de animales jóvenes (26,2%) que eliminaban huevos de *D. dendriticum* era similar al observado en los de mayor edad (26,8%). En la provincia de León, Manga-González *et al.* (1991) observaron que la prevalencia de infección era similar en los corderos (61,5%) que en las ovejas (65,4%). En **Galicia**, Vázquez *et al.* (2008) señalaron que el porcentaje de animales que eliminaban huevos de *D. dendriticum* era ligeramente superior en los animales de mayor edad, aunque estas diferencias no fueron significativas.

En relación con la influencia de las **condiciones climáticas de la zona** en la que pastan los rumiantes, diversos autores (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983; González-Lanza *et al.*, 1993; Manga y Quiroz, 1999; Otranto y Traversa, 2002), señalaron que la resistencia de los huevos a las condiciones ambientales era elevada, por lo que los pastos están contaminados durante largos períodos. Según Manga y Quiroz (1999) la contaminación de los pastos a finales del invierno y de primavera es alta, lo que facilita la ingestión de los huevos por los moluscos, que en esa época empiezan a estar activos y son muy abundantes, principalmente los juveniles que son los más receptivos.

### 1.2.4. Nematodos

Los nematodos gastrointestinales son parásitos muy prevalentes en los rumiantes y pertenecen a diversas familias y géneros (Tabla 1.4.). Según diversos autores (Meana y Rojo, 1999; Mehlhorn, 2008; Bowman, 2014), una de las clasificaciones más utilizadas es la que tiene en cuenta la Clase a la que pertenecen, así como los géneros incluidos en las distintas familias. La Clase Adenophorea/Enoplea incluye la Familia Trichuridae (*Trichuris* y *Capillaria*), mientras que la Clase Secernentea/Chromadorea agrupa los denominados strongílidos, en los que se incluyen diversas Familias de interés en el ganado caprino, como la Strongyloididae (*Strongyloides*), Chabertiidae (*Chabertia* y *Oesophagostomum*), Ancylostomatidae (*Bunostomum*) y Trichostrongylidae (*Cooperia*, *Haemonchus*, *Marshallagia*, *Nematodirus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia* y *Trichostrongylus*).

Tabla 1.4. Clasificación taxonómica de los nematodos gastrointestinales (Bowman, 2014)

CLASE	ORDEN	SUPERFAMILIA	FAMILIA	GÉNEROS
ADENOPHOREA	Trichocephala/ Enoplida	Trichinelloidea	Trichuridae	<i>Trichuris</i>
			Capillariidae	<i>Capillaria</i>
SECERNENTEA	Rhabditida	Rhabditoidea	Strongyloididae	<i>Strongyloides</i>
		Strongyloidea	Chabertiidae	<i>Chabertia</i> <i>Oesophagostomum</i>
	Strongylida	Ancylostomatoidea	Ancylostomatidae	<i>Bunostomum</i>
		Trichostrongyloidea	Trichostrongylidae	<i>Cooperia</i> <i>Haemonchus</i> <i>Nematodirus</i> <i>Ostertagia</i> <i>Teladorsagia</i> <i>Trichostrongylus</i>

Generalmente las infecciones son mixtas, participando dos o más géneros y varias especies, lo que explica la denominación general de «gastroenteritis parasitarias», aunque son más frecuentes las ocasionadas por nematodos de la Familia Trichostrongylidae (Meana y Rojo, 1999).

El **ciclo biológico** de los nematodos gastrointestinales es directo, con estadios de vida libre en el medio ambiente y otros de vida parásita. La fase externa comienza con la eliminación de huevos con las heces de los animales infectados. Si las condiciones ambientales son adecuadas, los huevos continúan su desarrollo embrionario, dando lugar a la

primera fase larvaria (L-1), que rompe la cubierta del huevo y se nutre de materias orgánicas que encuentra en las heces. Tras dos mudas se transforma en la tercera fase larvaria (L-3), con capacidad infectante para los hospedadores definitivos, que las ingieren con el pasto. La L-3 tiene, a diferencia de las dos anteriores, una doble vaina protectora que le impide nutrirse del medio exterior, pero que le confiere una marcada resistencia a las condiciones del medio exterior (Roeder *et al.*, 2013).

Dentro de este modelo general existen excepciones, como ocurre con el género *Nematodirus*, en el que las L-1 y L-2 evolucionan dentro del huevo, eclosionando la L-3 (Bowman, 2014). En el caso de *Trichuris* spp y *Capillaria* spp, los huevos se desarrollan en el suelo hasta el estadio infectante (L-1), provocando la infección al ser ingeridos por el ganado. La fase interna o endógena del ciclo se desarrolla en los rumiantes y se inicia con la ingestión de L-3 infectantes, o de huevos con L-1 en el caso de los tricúridos. Estas larvas alcanzan el cuajar o el intestino y entran en contacto con la mucosa, donde mudan hasta L-5 o preadulto. Finalmente, maduran sexualmente y, tras la cópula, comienzan a eliminar huevos con las heces.

Las **manifestaciones clínicas** dependen de las especies presentes, de la carga parasitaria y del estado inmunológico del hospedador (Hungerford, 1990). Así, las infecciones por *Haemonchus* spp., uno de los nematodos gastrointestinales más comunes y patógenos en los rumiantes, suelen caracterizarse por la presencia de anemia, debido a su carácter hematófago; los procesos agudos suelen cursar con heces oscuras, edema, debilidad y adelgazamiento, aunque a veces pueden ser fatales, mientras que en las hemoncosis crónicas es más frecuente la anorexia, pérdida de peso y anemia (Kassai, 1999). Es importante destacar que, al contrario que otros nematodos gastrointestinales, las infecciones por *H. contortus* no suelen cursar con diarrea (Zajac, 2006). Otro de los nematodos gastrointestinales más importante es *Teladorsagia circumcincta*, cuya principal acción patógena la causan sus fases larvarias en las glándulas gástricas, destruyendo las células parietales productoras de ácido clorhídrico y formando nódulos en la mucosa del abomaso (Levine, 1968), lo que se traduce en aumento del pH abomasal y disminución de la transformación del pepsinógeno en pepsina, alterando la digestión de las proteínas. Las infecciones suelen cursar con diarrea, reducción de la ganancia de peso y pérdida de producciones (Zajac, 2006).



Las especies de *Trichostrongylus* también son muy comunes, y éstas pueden localizarse en el abomaso o en el intestino delgado, presentando diferente patogenicidad. Aunque las infecciones intensas pueden causar diarreas sanguinolentas, las leves son difíciles de diferenciar de un proceso de malnutrición (Taylor *et al.*, 2007). Otros géneros, como *Bunostomum*, *Chabertia*, *Cooperia*, *Nematodirus* u *Oesophagostomum* son nematodos del intestino delgado y/o grueso y, aunque individualmente presentan una baja patogenicidad, pueden contribuir a la aparición de gastroenteritis parasitarias (Roeber *et al.*, 2013).

En el **diagnóstico** de las nematodosis gastrointestinales debe tenerse en cuenta, de forma conjunta, los signos apreciados en el examen clínico, el historial epidemiológico y los análisis de laboratorio.

Como se comentó anteriormente, las manifestaciones clínicas más frecuentes son la diarrea, falta de apetito, adelgazamiento, descenso de producción, anemia, edema y en infecciones intensas, la muerte del animal (Kassai, 1999; Taylor *et al.*, 2007); no obstante, son inespecíficas ya que pueden aparecer también en otros procesos. Sin embargo, todos estos signos son orientativos y aportan una información valiosa cuando se relacionan con datos epidemiológicos. Para facilitar el diagnóstico de estos procesos se han desarrollado varios sistemas para interpretar los signos clínicos asociados a este tipo de infecciones, como la calificación de la condición corporal (Russel *et al.*, 1969) o del grado de anemia (van Wyk y Bath, 2002), aunque presentan un alto grado de subjetividad y carecen de especificidad (van Wyk y Bath, 2002).

En relación con el historial epidemiológico, se debe considerar la edad de los animales afectados, así como su estado nutricional y el manejo en la granja (McKenna, 2002). Así, las infecciones por tricúridos y *Strongyloides* están relacionadas con condiciones higiénicas deficientes y suelen presentarse asociadas a otras helmintosis (Hidalgo y Cordero, 1999), siendo más patógenas en los animales jóvenes. Además, se debe sospechar de una infección intensa ocasionada por el resto de los nematodos gastrointestinales, cuando se observa un deterioro del estado general en muchos animales cuando estos se manejan en pastoreo o se han estabulado recientemente, especialmente si presentan trastornos gastrointestinales, anorexia e incluso muertes en goteo. En las infecciones producidas por *Haemonchus*, especialmente en animales jóvenes, hay anemia intensa y son frecuentes los casos de muertes súbitas.

La sospecha clínica y epidemiológica se debe confirmar en el laboratorio; los análisis de rutina se realizan mediante la técnica de flotación en solución salina saturada, que permite cuantificar el número de huevos por gramo de heces. Este método es barato, fácil de realizar y no requiere de un equipo especializado (Roeber *et al.*, 2013). Esta técnica permite, entre otras aplicaciones, estimar la intensidad de infección (McKenna, 1987) y el grado de contaminación con huevos de helmintos (Gordon, 1967), así como evaluar la eficacia de los antihelmínticos (Waller *et al.*, 1989). Aunque se han descrito diferentes métodos y modificaciones, la técnica de McMaster es la más empleada (Nicholls y Obendorf, 1994). Según Roeber *et al.* (2013), recuentos superiores a 200 hpg indican que la intensidad de infección es significativa McKenna (1981). Sin embargo, esta técnica también presenta una serie de limitaciones, pues los resultados varían de forma notable dependiendo de las especies presentes -pues poseen diferente potencial biótico, siendo *Haemonchus* spp especialmente prolífico, al contrario que *Nematodirus* spp- (McKenna, 1981), contenido en agua (Le Jambre *et al.*, 2007) y método de conservación/almacenamiento (Rinaldi *et al.*, 2011). Además, también se debe considerar que los recuentos de huevos en heces sólo permiten detectar infecciones en periodo de patencia (Thienpont *et al.*, 1986) y no aportan información sobre el número de machos adultos o fases inmaduras que puedan estar presentes (McKenna, 1981), y sus cifras pueden variar dependiendo del estado inmunitario, sexo y edad del hospedador (Thienpont *et al.*, 1986). En las infecciones por *Nematodirus* spp., los recuentos de huevos en heces son de poca utilidad, ya que los daños más importantes están causados por las fases inmaduras (McKenna, 1981; Gorski *et al.*, 2004).

No obstante, hay que tener en cuenta que, según diversos autores (Gevrey *et al.*, 1964; Borgsteede y Hendriks, 1974; Rojo *et al.*, 1997; Van Wyk *et al.*, 2004; Valcárcel *et al.*, 2009), el estudio morfométrico de los huevos de los nematodos gastrointestinales que afectan a los rumiantes sólo permiten diferenciar claramente *Trichuris*, *Capillaria*, *Strongyloides*, *Marshallagia* y *Nematodirus* del resto. Por ello es necesario recurrir a los coprocultivos, o cultivo de las heces, para identificar los géneros de la mayoría de los nematodos gastrointestinales, ya que el estudio de los caracteres morfológicos de las L-III que se desarrollan a partir de los huevos permite diferenciar los géneros, y en algunos casos las especies (Meana y Rojo, 1999; Alunda, 2003). Aunque las diferentes especies requieren de condiciones de temperatura y humedad diferentes para desarrollarse de forma óptima, se ha observado que el protocolo más común (27°C durante 7 días) es adecuado para la mayoría de



estos nematodos (Whitlock, 1956), aunque diferencias en el medio de cultivo, pH y oxígeno también podrían causar variaciones importantes de los resultados (Hubert y Kerboef, 1984).

Estos métodos coprológicos tienen, en general, el inconveniente de ser laboriosos y presentar importantes limitaciones desde el punto de vista de sensibilidad y especificidad (Gasser, 2006). Por ello, se han desarrollado varios métodos bioquímicos, que permiten detectar y medir diferentes parámetros como el pepsinógeno, o la gastrina en suero (Roeber *et al.*, 2013). También se han puesto a punto pruebas inmunológicas directas, como un ELISA que detecta antígenos de excreción/secreción de nematodos gastrointestinales en heces (Johnson *et al.*, 1996) e indirectas, que se basan en la detección de anticuerpos específicos, siendo el más empleado el ELISA, aunque también se han desarrollado otras como la fijación del complemento, la inmunofluorescencia indirecta o la hemaglutinación (Doenhoff *et al.*, 2004; Roeber *et al.*, 2013); estas técnicas indirectas pueden emplearse en muestras de suero y de leche.

Para la identificación específica de los nematodos gastrointestinales se emplea, tradicionalmente, el examen *post-mortem* del tubo digestivo de los animales, que también permite estimar la carga parasitaria (Roeber *et al.*, 2013). Estas técnicas conllevan la apertura y lavado de varias partes del tracto gastrointestinal, junto con el examen de varias submuestras para poder estimar la intensidad de infección. Recientemente, las técnicas moleculares se han convertido en una alternativa útil para alcanzar una correcta identificación de las especies de nematodos gastrointestinales, lo que permitirá continuar avanzando en el conocimiento de la epidemiología de los mismos y mejorar las medidas de control (Gasser, 2006).

Las investigaciones sobre la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales en ganado caprino son escasas en comparación a las realizadas en otros rumiantes domésticos, especialmente las relativas a los tricúridos y a *Nematodirus*. En un estudio realizado en cabras de raza autóctona gallega, Béjar (2011) observó que el 14,8% de los animales eliminaban huevos de *Trichuris*, siendo los recuentos medios bajos ( $\bar{x}$ = 88 hpg; DE 65). Así mismo, Vázquez-Rodríguez (2016) señaló una prevalencia de infección del 13% en cabras mantenidas en intensivo en diferentes localidades gallegas. Estas cifras son similares a las detectadas en ganado ovino explotado en diversas localidades españolas; así, Domínguez-Toraño *et al.* (2000), Hidalgo *et al.* (1995) y Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b) señalaron prevalencias y

cifras medias de eliminación de huevos de *Trichuris* de 11,7% y 2,6 hpg en ovejas de la provincia de Madrid, de 8,7% y 79,1 hpg en las de Burgos y de 20,4 hpg en las de León, respectivamente. Los porcentajes de infección observados en caprino de Galicia son similares a los hallados en otros países europeos; así, Manfredi *et al.* (2010) y Di Cerbo *et al.* (2010) observaron prevalencias que oscilaron entre el 10,4% y el 12,12% en cabras del norte de Italia, con cifras de eliminación bajas (74,6 hpg). Sin embargo, en ganado caprino de Dinamarca, el porcentaje de animales positivos a *Trichuris* spp fue más elevado, alcanzando el 33,7% (Holm *et al.*, 2014).

Entre los posibles **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia y las cifras medias de eliminación de huevos de *Trichuris*, se encuentra la edad de los animales; así, en cabras de raza galega, Béjar (2011) comprobó que los animales adultos (2-6 años) presentaban mayor prevalencia y cifras medias de eliminación (18,8%; 98 hpg, DE 70) que los jóvenes (13,3%) y los de mayor edad (15,3%). Así mismo, observó que, aunque las hembras eliminaban mayor número de hpg de *Trichuris* ( $\bar{x}$ = 88 hpg; DE 65), eran los machos los que presentaban mayor prevalencia. Posteriormente, en cabras mantenidas en intensivo en diferentes localidades gallegas, Vázquez-Rodríguez (2016) no constató diferencias significativas entre la prevalencia de infección por huevos de *Trichuris* ni al considerar el sexo ni la edad de los animales. No obstante, halló mayor prevalencia de infección en los machos (16,7%) que en las hembras (12,7%) y en los adultos (13,4%) que en los jóvenes; por el contrario, los valores medios de eliminación fueron superiores en las hembras ( $\bar{x}$ = 20,4 hpg; DE 12,8) que en los machos ( $\bar{x}$ = 15 hpg; DE 0) y en los jóvenes ( $\bar{x}$ = 21,8hpg; DE 15,1) que en los adultos ( $\bar{x}$ = 19,6 hpg; DE 12,1). Respecto a la influencia de la zona de procedencia de las cabras, Béjar (2011) observó que la prevalencia de infección por *Trichuris* era superior en el centro (20%) que en la montaña (12,2%); sin embargo, las cabras mantenidas en esta última zona eliminaban cifras medias superiores ( $\bar{x}$ = 112 hpg; DE 79) a las del centro ( $\bar{x}$ = 52 hpg; DE 3) aunque estas diferencias carecieron de significación estadística.

En relación con la eliminación de huevos de *Nematodirus*, en cabras de raza autóctona galega, Béjar (2011) comprobó que la prevalencia era notable (25,2%), aunque las cifras medias de eliminación eran bajas ( $\bar{x}$ = 66 hpg; DE 30). Estos resultados son muy superiores a los hallados en ganado caprino en otros países europeos como Dinamarca (15% *Nematodirus*

spp. y 3,6% *N. battus*, Holm *et al.*, 2014) o Italia (10,8%, Manfredi *et al.*, 2010; 12,1%, Di Cerbo *et al.*, 2010). Además, en otros estudios realizados en ovejas de Galicia, los porcentajes de infección fueron más reducidos a los hallados en cabras. Freiría (2003) señaló que el 8,5% de los ovinos explotados en la provincia de Lugo eliminaban cifras medias de 23,1 hpg, mientras que Cienfuegos *et al.* (2009) hallaron una prevalencia de *Nematodirus* del 13,6% y recuentos medios de 52,4 hpg en ovinos en pastoreo semiextensivo; el porcentaje de explotaciones positivas osciló entre el 31,8% y el 26,6% (Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Paineira, 2007), mientras que Álvarez-Feijóo (2003) solo halló animales que eliminaban huevos de este nematodo en el 9,1% de los rebaños. Estos resultados coinciden con los observados por Domínguez-Toraño *et al.* (2000) en ovino de la provincia de Madrid, donde las cifras fueron bajas (7,5%; 44,5 hpg). Por el contrario, en otras provincias del norte de España, las prevalencias fueron más elevadas; Hidalgo *et al.* (1995) y Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b) señalaron porcentajes de infección por *Nematodirus* de 29,5% y 21,2% en ganado ovino de Burgos y León, respectivamente, mientras que la eliminación media osciló entre 14,3 y 42 hpg.

Respecto a los **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia y cifras medias de eliminación de *Nematodirus*, Béjar (2011), en cabras de raza galega, comprobó que la eliminación en las hembras (68 hpg; DE 31) fue ligeramente superior a la observada en los machos (50 hpg; DE 0), aunque en ningún caso estas diferencias fueron significativas. Así mismo, los animales de mayor edad (> 6 años) eliminaron cifras medias de hpg más elevadas (75 hpg; DE 35) que los adultos (51 hpg; DE 1) y los jóvenes menores de 2 años (48 hpg; DE 0); por el contrario, Gorski *et al.* (2004) señalaron que las infecciones por *Nematodirus* spp son más frecuentes en los animales más jóvenes, aunque los animales adultos también pueden estar afectados. Con respecto a otros factores que pueden influir en los porcentajes e intensidad de eliminación, Gorski *et al.* (2004) observaron que, de todas las especies de cabras estudiadas en varias zonas de Polonia, la raza Swiniarka presentaba las mayores prevalencias. Además, Domke *et al.* (2013) comprobaron que las ovejas presentaban recuentos medios de huevos de *Nematodirus* spp (392 hpg) más elevados que las cabras (154 hpg), lo que podría indicar una menor sensibilidad frente a la infección.

En relación con la zona de procedencia de las cabras, Manfredi *et al.* (2010) señalaron que la epidemiología de este nematodo está muy relacionada con el periodo de transmisión de estos parásitos, y en consecuencia, está muy influenciado por el clima; de hecho, Soulsby

(1987) y Rose y Jacobs (1990) afirmaron que las diferencias en la prevalencia de *Nematodirus* spp podrían deberse a la elevada sensibilidad que este nematodo presenta frente a pequeñas variaciones climáticas. Así, Béjar (2011) observó que tanto la prevalencia como las cifras medias de eliminación eran significativamente superiores en la montaña (31,1%;  $67 \pm 30$ ) que las de la zona centro (13,3%;  $48 \pm 0$ ). En este mismo sentido, en la región de Lombardía (Italia), Manfredi *et al.* (2010) apreciaron una correlación positiva entre la prevalencia de infección por *Nematodirus* y la altitud a la que se encontraban los animales, de modo que el riesgo de ser positivo era 9,1 y 3,3 veces más elevado en animales que pastaban a más de 1000 m y entre los 500-1000 m, respectivamente, que en aquellos que lo hacían en zonas más bajas. Estas diferencias pueden deberse a las menores temperaturas y mayores precipitaciones que suelen ser características de estas zonas de montaña. En este sentido, Kates (1950) y Di Cerbo *et al.* (2010) señalaron que este parásito presenta una mayor adaptación a las bajas temperaturas que otros géneros de nematodos gastrointestinales, de modo que sus larvas pueden sobrevivir a las bajas temperaturas invernales dentro del huevo; de hecho encontraron los mayores recuentos medios de hpg en aquellas zonas donde se registraron las menores temperaturas medias y mínimas (norte y este de las provincias de Sondrio y Brescia). Además, Gorski *et al.* (2004) señalaron que los huevos de *Nematodirus* también son muy resistentes a la desecación, de manera que pueden sobrevivir varios meses en el pasto, pero sin embargo, necesitan humedad elevada para poder eclosionar. Por ello, y debido a que las L-3 de *Nematodirus* se desarrollan en el interior del huevo, éstos eclosionan de modo casi simultáneo después de periodos lluviosos en épocas de temperaturas moderadas (primavera), siempre y cuando hayan estado previamente expuestos al frío de forma prolongada (invierno); estas condiciones atmosféricas determinan la aparición de brotes clínicos por infecciones masivas, en especial de los corderos (Miró *et al.*, 1991; Rojo y Meana, 1999). Además, las L-3 de *Nematodirus* mantienen su poder infectante durante más de 23 meses.

Respecto a la eliminación del resto de los **nematodos gastrointestinales o estrongílicos**, Vázquez-Rodríguez (2016) comprobó que el 46% de las cabras mantenidas en intensivo en la provincia de Lugo mostraban recuentos medios de 170 hpg (DE 426,6). La prevalencia fue superior en cabras de raza autóctona gallega en régimen de pastoreo, donde Béjar (2011) observó que el 86,7% eliminaban cifras medias de 432 hpg (DE 552). Valcárcel *et al.* (1999), en ganado caprino del centro de España, halló también un elevado porcentaje de animales

positivos (93%). Estos resultados coinciden con los obtenidos en ganado ovino de la provincia de Lugo, donde diversos autores señalaron que en todas las explotaciones, las ovejas eliminaban huevos de nematodos gastrointestinales y que el porcentaje de animales infectados oscilaba entre el 91 y el 94% (Pedreira *et al.*, 2001a, 2003; Álvarez-Feijóo, 2003; Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Cienfuegos *et al.*, 2009; Paineira, 2012). Los estudios epidemiológicos acerca de las infecciones por strongílidos en los pequeños rumiantes de España son especialmente numerosos en el ganado ovino, señalando que prácticamente el 100% de los animales eliminan a lo largo de su vida huevos de estos nematodos (Cordero *et al.*, 1985; Miró *et al.*, 1993; Meana y Rojo, 1999). No obstante, la prevalencia de infección varía de unas regiones a otras; los porcentajes más elevados (100%) se hallaron en el Valle del Guadalquivir (Martínez-Gómez, 1985) y en el País Vasco (García y Juste, 1987). En la Meseta Meridional, Tarazona *et al.* (1985), hallaron porcentajes de infección del 87,5%; en Aragón, según Uriarte *et al.* (1979, 1985) los porcentajes de infección oscilaron entre el 91,2% y el 89,1%, respectivamente; en la Comunidad de Madrid, el 86,9% de los ovinos eliminaban huevos de strongílidos (Domínguez-Torano *et al.*, 2000); asimismo, en las provincias de Burgos (Hidalgo *et al.*, 1995), de Segovia (Ferre *et al.*, 1991), de Salamanca (Ramajo *et al.*, 1995) y de Cáceres (Reina *et al.*, 1987), señalaron porcentajes de infección del 78,7%; 76,6%; 72,03% y 68,2%, respectivamente. En ovinos de la provincia de León, Cordero *et al.* (1985), Díez-Baños *et al.* (1991 a, b) y Álvarez-Sánchez *et al.* (2001), señalaron porcentajes de infección del 81,7, 97,9 y 89,8%, respectivamente. Posteriormente, Díez-Baños *et al.* (2006), en ovinos en pastoreo semiextensivo en la provincia de León y más concretamente en los explotados en la montaña leonesa (Díez-Baños *et al.*, 2009 b), observaron que en el 87,7% y 87,4% de las explotaciones los animales eliminaban huevos de tricostrongílidos.

Las cifras medias de eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales halladas en ganado ovino de Galicia pueden considerarse entre bajas y moderadas. Pedreira *et al.* (2003) señalaron eliminaciones de 357 hpg en las 4 provincias gallegas, mientras que Freiría (2003), en ovejas de Lugo, citó cifras medias más bajas (116,8 hpg). Posteriormente, Cienfuegos *et al.* (2009) en ovinos en pastoreo semiextensivo en Galicia, señalaron eliminaciones medias de 632,4 hpg. Los recuentos hallados en Galicia se corresponden, en general, con los obtenidos en diferentes regiones españolas. En las provincias de Burgos y Madrid, Hidalgo *et al.* (1995)



y Domínguez-Toraño *et al.* (2000), hallaron valores medios de 323 y 195,2 hpg, respectivamente. En la provincia de León, Díez-Baños *et al.* (1979) señalaron cifras medias de excreción de 490 hpg; aunque en estudios posteriores (Díez-Baños *et al.*, 2006, 2009 b) obtuvieron valores más bajos (98,7 y 143 hpg), siendo similares a los hallados por Martínez-González (1996) quien, en ovinos en pastoreo continuo en la provincia de León, comprobó que las cifras medias de eliminación eran bajas (110 hpg) y que en ningún caso los animales eliminaron más de 1.000 hpg de gastrointestinales.

En las gastroenteritis parasitarias que afectan a los rumiantes tiene una gran **importancia los géneros y especies** implicadas. Los estudios realizados en ganado caprino son escasos y, en general, se admite que estos son comunes para las ovejas y las cabras (García-Romero, 1992; Meana y Rojo, 1999; Alunda, 2003; Díez-Baños *et al.*, 2003). En cabras mantenidas en intensivo en distintas localidades gallegas, Vázquez-Rodríguez (2016) identificó larvas de *Trichostrongylus*, *Teladorsagia* y *Haemonchus*. Estos resultados coinciden parcialmente con las halladas en ovejas mantenidas en pastoreo continuo en la provincia de A Coruña, donde Díaz-Núñez *et al.* (1991) identificaron larvas de *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Oesphagostomum*, *Chabertia* y *Cooperia*.

Los diferentes géneros de estrongílicos y su prevalencia varían notablemente con la zona de procedencia de los rebaños, aunque también habría que considerar otras variables como la edad de los animales, diseño del estudio, época de muestreo, etc. El número de investigaciones realizado en ganado caprino de nuestro País es muy limitado, por lo que nos referiremos a los llevados a cabo en ovino. En España, diversos autores señalan que *Teladorsagia*, es uno de los géneros más prevalentes. En Galicia, Pedreira (2006), Álvarez-Feijóo (2003), Freiría (2003) y Panceira (2007) lo hallaron en el 50-83,3% de los rebaños. En la provincia de Toledo, García-Romero *et al.* (1993) identificaron este género en el 79,8% de los rebaños examinados. Asimismo, Llorente (1999) halló larvas de este género en el 95,8% de los rebaños de ovejas que pastaban en el Valle del Ebro. En la provincia de León, Díez-Baños *et al.* (1979) identificaron L-3 de *Teladorsagia* en el 91,1 y 97% de los rebaños; mientras que, Martínez-González (1996) y Álvarez-Feijóo (2003) las hallaron en el 59,5 y 50% de los rebaños estudiados, respectivamente. Asimismo, *Haemonchus* presenta una elevada prevalencia en los rebaños de algunas zonas de España, especialmente en aquellas más cálidas. Así, García Romero *et al.* (1993) identificaron larvas de este género en el 79,8%

de los rebaños de la provincia de Toledo; mientras que Llorente (1999) lo hallaron en el 66,7% de los rebaños del Valle del Ebro. Por el contrario, la prevalencia de este género en ovinos del noroeste de España fue sensiblemente inferior, puesto que Álvarez-Feijóo (2003), Freiría (2003), Pedreira (2006) y Paineira (2007) solo lo hallaron en el 4%, 27,3%, 14,1% y 3,3%, respectivamente de los rebaños de la provincias de León y Lugo.

El género *Trichostrongylus* es menos prevalente que los anteriores, pues el porcentaje de infección en ovinos de la provincia de León fue del 8,4%; 34,6% y 42%, según Díez-Baños *et al.* (1979), Martínez-González (1996) y Álvarez-Sánchez *et al.* (2001), respectivamente. Sin embargo, fue el género más prevalente en los rebaños de ovinos explotados en Galicia, puesto que Álvarez-Feijóo (2003), Pedreira (2006) y Freiría (2003), lo identificaron en el 100%, 74,4% y 72,7% de las granjas, respectivamente; por el contrario, Paineira (2007) solo lo identificó en el 66,6% de las explotaciones.

La prevalencia de *Oesophagostomum* es también baja; Valcárcel *et al.* (1999) lo hallaron en el 19,2% de los rebaños de Castilla la Mancha y Álvarez-Sánchez *et al.* (2001) en el 3% de las explotaciones de la provincia de León, mientras que en Galicia su prevalencia osciló entre el 6,6% y el 18,2% (Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Paineira, 2007). *Chabertia* se halló en el 18,1%, 23,1% y 26,6% de las explotaciones según Freiría (2003), Pedreira (2006) y Paineira (2007), respectivamente. Con menor prevalencia se observan las infecciones por larvas de *Cooperia*; aunque el 10,3-20% de los rebaños gallegos fueron positivos (Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Paineira, 2007), mientras que, en rebaños de ovinos de la provincia de León, Martínez-González (1996) únicamente identificó larvas en el 4%.

En cuanto a las asociaciones más frecuentes entre géneros, en ganado ovino de otras regiones españolas, Díez-Baños *et al.* (2003) y García-Romero (1992), comprobaron que las asociaciones genéricas más frecuentes eran las de *Teladorsagia* y *Trichostrongylus*; posteriormente, García-Romero *et al.* (1993), en ovinos de la comarca de Oropesa, señalaron que la infección por *Trichostrongylus*, *Haemonchus* y *Ostertagia* era la más frecuente. En ovinos en pastoreo continuo en la provincia de León, Martínez-González (1996), observó que los géneros más frecuentes eran *Ostertagia*, seguido de *Trichostrongylus* y en menor proporción halló *Cooperia*, *Nematodirus* y *Chabertia*.

En ovejas de la provincia de Toledo, Valcárcel (1993) identificó larvas de los géneros *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Nematodirus*, *Haemonchus*; *Cooperia* y *Marshallagia*, siendo el más frecuente *Ostertagia*; además, señalaron que las infecciones más frecuentes eran las

dobles y las triples y que las monoespecíficas eran menos abundantes. Posteriormente, en ovejas explotadas en Castilla-La Mancha, Valcárcel y García-Romero (1999), comprobaron que las infecciones mixtas más frecuentes eran las de *Teladorsagia* + *Trichostrongylus* y las de *Trichostrongylus* + *Nematodirus*. Asimismo, Domínguez-Toraño *et al.* (2000) en ovejas explotadas en la provincia de Madrid, comprobaron que los géneros más prevalentes eran *Haemonchus*, *Trichostrongylus* y *Oesophagostomum* y con menor frecuencia identificaron *Teladorsagia*, *Cooperia*, *Nematodirus* y *Chabertia*. En ovinos explotados en la provincia de Zaragoza, Llorente (1999), observó que las infecciones por 2 géneros eran las más frecuentes (*Ostertagia* y *Nematodirus*), seguidas por las infecciones triples (*Ostertagia*, *Trichostrongylus* y *Nematodirus*).

Al considerar los posibles **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia y cifras medias de eliminación de huevos de estrongídeos, una de las variables más estudiadas es la edad de los animales, constituyendo uno de los factores más determinantes (Almería y Uriarte, 1999 a, b; Díaz *et al.*, 2005); generalmente, ambos parámetros son superiores en los animales jóvenes, debido a que no han tenido contacto previo con los parásitos y que, además, su sistema inmunitario no está totalmente desarrollado; de hecho, se ha comprobado que los animales re infectados presentan una cierta resistencia adquirida frente a nuevas parasitaciones. Además. Otros autores (Miller, 1987; Douch y Morum 1993; Martínez-González, 1996; Meana y Rojo, 1999) han señalado que los corderos a partir de los 3 meses de edad son más receptivos a las infecciones por nematodos de los géneros *Ostertagia*, *Haemonchus* y *Trichostrongylus*. Esta receptividad es atribuida, en parte, a la inmadurez del sistema inmune así como a la falta de respuesta local, lo que hace que en los jóvenes sean más frecuentes las formas clínicas de la enfermedad con porcentajes de mortalidad más elevados (Meana y Rojo, 1999). En este sentido, Vázquez-Rodríguez (2016) en ganado caprino en intensivo de Galicia, comprobaron que, aunque el porcentaje de animales que excretaban huevos de nematodos gastrointestinales era inferior en las cabras menores de 13 meses (21,3%), la eliminación media fue significativamente superior en estos animales (197,8 hpg; DE 461,4) que en las cabras de mayor edad (29,0 hpg; DE 18,1). En ganado ovino en Segovia, Ferre *et al.* (1991) comprobaron que el porcentaje de ovejas en pastoreo que eliminaban huevos de nematodos gastrointestinales era ligeramente superior en los jóvenes (77,6%) que en los adultos (72,3%). Así mismo, en la provincia de Madrid, Domínguez-



Toraño *et al.* (2000) comprobaron que el porcentaje y de infección en los corderos menores de 1 año (87,5%) era superior al hallado en las ovejas mayores de 6 años (78,9%). Por el contrario, en cabras de raza galega, Béjar (2011) comprobó que las cifras medias de eliminación eran más elevadas en las cabras mayores de 6 años (633 hpg; DE 810) que en las adultas (400 hpg; DE 475) y en las jóvenes menores de 2 años (386 hpg; DE 551), aunque en ningún caso estas diferencias fueron significativas, posiblemente debido al reducido número de animales muestreados (135). Del mismo modo, mediante necropsia, Díez-Baños *et al.* (1992) concluyeron que la edad y el área de procedencia de los ovinos no influían significativamente sobre la prevalencia y la intensidad de eliminación, siendo las interacciones interespecíficas las que realmente influían sobre la prevalencia e intensidad de los nematodos gastrointestinales en ovinos en pastoreo.

Con respecto a la **raza**, Di Cerbo *et al.* (2010) observaron que algunas razas autóctonas del norte de Italia, como la Nera di Verzasca o la Orobica, mostraban una mayor resistencia frente a las infecciones por nematodos gastrointestinales, ya que, manejadas en régimen extensivo, eran capaces de sobrevivir en pastos muy contaminados.

Al considerar el **sexo**, Vázquez-Rodríguez (2016) comprobaron que las cabras mantenidas en intensivo en la provincia de Lugo mostraban una prevalencia similar (50% en machos y 45,6% en hembras), aunque los machos eliminaban cifras medias de huevos de strongílidos (621,7 hpg; DE 1.290,8) significativamente superiores a las excretadas por las hembras (130,2 hpg; DE 232,5). En este sentido, Béjar (2011) también comprobó que el porcentaje de animales de raza “Cabra Galega” que eliminaban huevos de strongílidos (80% vs 91,2%) era similar en ambos sexos; sin embargo los machos eliminaron cifras inferiores (302 hpg; DE 186) que las hembras (441 hpg; DE 568), aunque estas diferencias carecieron de significación estadística. Otros autores, como Asanji y Williams (1987), Pal y Qayyum (1992) y Valcárcel *et al.* (1999) tampoco encontraron diferencias significativas en ambos parámetros al tener en cuenta el sexo de los animales.

En relación con la **presencia o no de ovejas en el rebaño**, se ha demostrado que el ganado ovino y caprino comparten numerosos parásitos gastrointestinales, lo que puede llevar a posibles interacciones que repercutan de forma negativa en el estado sanitario de los

animales (Di Cerbo *et al.*, 2010). Además, se ha comprobado que las cabras son más sensibles a la infección con nematodos gastrointestinales que las ovejas, presentando mayores cargas parasitarias y cifras de eliminación de huevos (Hoste y Chartier, 1993; Chartier y Hoste, 1997; Manfredi *et al.*, 2010); por ello, los rebaños mixtos, o aquellas granjas de cabras cercanas a explotaciones de ovejas tienen un mayor riesgo de infección (Di Cerbo *et al.*, 2010). Sin embargo, en Galicia, Vázquez-Rodríguez (2016) observaron que, aunque la prevalencia era similar en rebaños con (46,8%) y sin ovejas (45,5%), no obstante, las cifras medias de excreción de huevos de strongílidos fueron significativamente superior en las granjas mixtas (278,8 hpg; DE 592,5) que en los que solo había cabras (82,6 hpg; DE 183,4). En ganado caprino de Noruega, Domke *et al.* (2013) también hallaron mayores prevalencias y recuentos medios en ovejas (73,3%; 392 hpg) que en cabras (61,1%; 154 hpg).

Al considerar el **tipo de manejo**, la explotación de los animales en régimen de pastoreo supone un mayor riesgo (Cabaret *et al.*, 1989). En caprino del norte de Italia, Manfredi *et al.* (2010) observaron que el riesgo de infección era 5,8 veces superior en los que se manejaban en extensivo, lo que se debía a que estas cabras se encontraban continuamente en pastizales muy contaminados con larvas de strongílidos. Por otro lado, Di Cerbo *et al.* (2010) señalaron que los animales en pastoreo pueden compartir pastos con otros rumiantes silvestres que pueden actuar como hospedadores de ciertas especies de nematodos, como *Haemonchus contortus* o *Trichostrongylus axei*, que presentan una reducida especificidad de hospedador, lo que incrementa el riesgo de infección del ganado. De todos modos, también se ha descrito que la intensidad de infección por strongílidos se incrementa cuando aumenta la densidad de animales en los pastos (Cabaret *et al.*, 1986a).

Respecto a la posible influencia de las **condiciones climáticas** sobre la prevalencia y las cifras de eliminación de huevos de strongílidos, se ha comprobado que estas variables varían en función del área geográfica de la que procedan los animales, incluso en diferentes zonas de un mismo país o región. Esto se debe a que el desarrollo de las fases libres de los nematodos gastrointestinales en el ambiente externo está influido por diversos factores ambientales que pueden acelerar, retrasar o incluso inhibir esta evolución (Hayashi *et al.*, 1991; Miró *et al.*, 1991; Meana y Rojo, 1999), lo que se traduce en diferencias importantes en los niveles de contaminación de los pastos y por tanto de la prevalencia de infección o la intensidad de

eliminación de huevos (Couvillion *et al.*, 1996; Waruiru *et al.*, 2000, 2001; Keyyu *et al.*, 2003). En ganado ovino, diversos autores (Hayashi *et al.*, 1991; Alunda, 2003; Manfredi, 2006; Pedreira, 2006; Cienfuegos *et al.*, 2009) han señalado que el desarrollo y supervivencia de los estadios de vida libre de los nematodos gastrointestinales en los pequeños rumiantes, así como su distribución, depende fundamentalmente de la humedad y de la temperatura; teniendo menos importancia otros factores como la oxigenación, la inclinación del terreno, la acidez del medio, etc. De hecho, se ha apreciado que en áreas cálidas y secas, la humedad es el parámetro que influye de forma más notable el desarrollo larvario (Tarazona *et al.*, 1985; Uriarte y Gruner, 1989), mientras que en zonas húmedas, los estadios larvarios están más influenciados por la temperatura (Michel, 1969). En este sentido, García Romero *et al.* (1997) señalaron que, incluso en regiones áridas, la temperatura es el factor que influye en mayor medida sobre la contaminación del pasto y en la epidemiología de estos nematodos, siempre y cuando el nivel de humedad permita el desarrollo larvario. Rossanigo y Gruner (1995) también comprobaron que el contenido en agua de las heces juega un papel muy importante en el desarrollo de las fases libres del parásito; cada especie presenta preferencias en el contenido de humedad de la materia fecal (55-70%), y como ese porcentaje es, por lo general, superior al que realmente presentan las heces, un ambiente húmedo (por ejemplo una zona con elevadas precipitaciones) evitaría la desecación o incrementaría la humedad de las heces, facilitando el desarrollo y supervivencia de las fases larvarias de todas las especies de nematodos gastrointestinales.

Además, según Meana y Rojo (1999) las larvas de tercer estadio de los diferentes géneros de strongílidos poseen diferente grado de resistencia a las condiciones adversas, siendo de mayor a menor *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* y *Haemonchus*. Las L-3 de *Cooperia* y *Ostertagia* mantienen su poder infectante durante al menos 12 meses, mientras que los de *Nematodirus* superan los 23 meses. Las de *Trichostrongylus* son muy resistentes a las temperaturas frías extremas, pero son incapaces de sobrevivir en condiciones de altas temperaturas y baja humedad. De esta forma algunas larvas pueden resistir durante el invierno, pero no en las épocas secas y calurosas. Las de los géneros *Ostertagia* y *Teladorsagia* resisten mucho el frío y algo menos la desecación; por eso, las larvas infectantes desarrolladas a partir de huevos depositados en el medio, en el otoño, pueden sobrevivir todo el invierno si la humedad es elevada. En relación con *H. contortus*, Dinaburg (1944) obtuvo pocas larvas infectantes por debajo de 18 ° C, temperatura a la que se conoce “Dinaburg line”.

En este sentido, en **cabras de raza galega**, Béjar (2011) observó que tanto la prevalencia como las cifras medias de eliminación eran significativamente superiores en los animales mantenidos en la zona centro (93,3%;  $\bar{X}$ = 487 hpg, DE 478), con temperaturas más suaves y pastos que se encharcan con mayor facilidad, que en los de montaña (88,9%;  $\bar{X}$ = 398 hpg, DE 594). En ganado caprino de Noruega, Domke *et al.* (2013) hallaron porcentajes y cifras de eliminación de huevos significativamente mayores en los animales de la zona de costa en comparación con aquellos explotados en regiones del interior o del norte del país, puesto que las condiciones climáticas allí son más adecuadas para el desarrollo de las fases libres del parásito, por lo que la contaminación ambiental es más elevada, permitiendo además que los animales permanezcan en el pasto durante periodos más prolongados y, por lo tanto, favoreciendo su infección. Sin embargo, las explotaciones de esta zona también presentan características que incrementaban el riesgo de infección, como mayores densidades de animales y un número más elevado de granjas de ovino.

### 1.3. INFECCIONES DEL APARATO RESPIRATORIO

Las principales infecciones parasitarias que afectan a este aparato en los pequeños rumiantes (cabras y ovejas) están producidas por nematodos que pertenecen a las familias **Dictyocaulidae** (Superfamilia Trichostrongyloidea) y **Protostrongylidae** (Superfamilia Metastrongyloidea). En el ganado caprino y ovino, estas infecciones broncopulmonares se las denomina bronconeumonías parasitarias, bronquitis verminosas o estrongilosis respiratorias.

La **dictiocaulosis** en los pequeños rumiantes se caracteriza por ser un proceso crónico de las vías respiratorias altas (tráquea y bronquios), causado por *Dictyocaulus filaria*, que afecta al ganado caprino y ovino. Es un proceso ligado al pasto y de distribución mundial, que llega a ocasionar importantes pérdidas económicas, sobre todo en los animales más jóvenes.

El ciclo biológico de *D. filaria* es directo o monoxeno (Díez-Baños *et al.*, 1999). Los adultos se localizan en tráquea, bronquios y bronquiolos del ganado caprino y ovino. Las hembras son ovovivíparas y ponen huevos que contienen larvas de primer estadio (L-1) totalmente desarrolladas, la eclosión de las L-1 se produce en los bronquios, liberándose estas con rapidez y, arrastradas por el epitelio vibrátil de los bronquios hacia la tráquea, llegan al espacio nasofaríngeo, siendo deglutidas con la secreción mucosa. En el aparato digestivo

finaliza la eclosión de los huevos y las L-1 se eliminan con las heces. La fase exógena del ciclo se desarrolla, en condiciones adecuadas, en 6-7 días pero puede prolongarse varias semanas. En el exterior, en el seno de la materia fecal, las L-1 se mueven lentamente y, con humedad, temperatura y oxigenación favorables, mudan dos veces y se transforman en larvas de segundo (L-2) y tercer estadio (L-3), siendo estas últimas infectantes. El ganado caprino se infecta al ingerir las L-3 con la hierba y, cuando éstas llegan al intestino delgado, atraviesan la mucosa intestinal, pasando a la circulación linfática y alcanzando los ganglios linfáticos mesentéricos locales, donde mudan, aproximadamente a los 4 días p.i., a larvas de cuarto estadio (L-4), desde los capilares perialveolares atraviesan los tejidos y pasan a los alvéolos y bronquiolos pulmonares, donde realizan la última muda a larva de quinto estadio (L-5) o preadulto (18-20 días p.i.). En los bronquios y bronquiolos estas fases inmaduras se desarrollan sexualmente, y al cabo de un mes p.i., ya se observan las L-1 en las heces.

Además de por *Dictyocaulus*, el ganado caprino y ovino están parasitados por diversas especies de la Familia Protostrongylidae. Las **protostrongilidosis** son infecciones parasitarias de curso crónico, sintomatología poco manifiesta, baja mortalidad y elevada morbilidad. Los adultos se localizan en los alvéolos, bronquiolos, parénquima pulmonar, o ambos, de cabras, ovejas y de algunos rumiantes silvestres (rebeco, muflón, etc.).

El **ciclo biológico de los Protostrongylidae** es indirecto o heteroxeno y en él intervienen numerosas especies de caracoles y babosas que actúan como hospedadores intermediarios, siendo los pequeños rumiantes los hospedadores definitivos. Los adultos de los protostrongílidos se localizan dentro de “nódulos verminosos”, más o menos definidos según la especie, en los que las hembras ponen huevos que, posteriormente, eclosionan en extensas zonas del parénquima denominadas “nódulos de cría” que están bien delimitados y diferenciados del parénquima pulmonar no dañado, y cuyas características anatomopatológicas dependen de las diversas especies. Las L-1, una vez eclosionadas de los huevos, salen a la luz bronquial para ascender con el mucus hasta la glotis, donde son deglutidas y penetran, fundamentalmente a través del epitelio ciliado, en el pie de los hospedadores H.I., donde realizan dos mudas, hasta alcanzar el estadio infectante o de L-3 (Díez-Baños *et al.*, 1999). Cuando los pequeños rumiantes ingieren los H.I. con las larvas infectantes, en el tracto digestivo las L-3 se liberan y pasan a través de la pared del intestino grueso y alcanzan el pulmón vía hemática y/o linfática, donde se localizan definitivamente los

adultos; las hembras ponen huevos que eclosionan rápidamente en los nódulos larvarios o en el árbol bronquial. Las larvas ascienden con el moco hacia la laringe, son deglutidas y, posteriormente salen al exterior con las heces.

En Europa, las principales especies de protostrongílidos que parasitan al ganado caprino y ovino son *Cystocaulus ocreatus*, *Muellerius capillaris*, *Neostrongylus linearis* y *Protostrongylus* spp. (Díez-Baños *et al.*, 1999).

Debido a que el **diagnóstico** es similar en la dictiocaulosis y en las protostrongilidosis, esta parte de la revisión se hará en conjunto. Este se puede realizar teniendo en cuenta las manifestaciones clínicas, mediante examen *post mortem* y por técnicas coprológicas.

Respecto a las manifestaciones clínicas, en las cabras que tienen más de 2 ó 3 años, si la infección es masiva, cursa con neumonía intersticial aguda y sufren disnea y tos continua. En infecciones naturales, la muelleriosis ovina y caprina suele ir asociada a otras parasitosis intestinales o hepáticas, al tiempo que predispone a otras enfermedades ya que el estado general es deficiente. Además, signos respiratorios, como hiperpnea y respiración abdominal, con tos frecuente, seca y ronca y, a veces, con espasmos y asfixia. A la auscultación no es fácil localizar los focos neumónicos (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003). No obstante, debido a que las bronconeumonías verminosas en el ganado caprino cursan con escasa sintomatología, el diagnóstico clínico no es demasiado útil; por lo que para confirmar estas infecciones es necesario recurrir al examen *post mortem* o a técnicas de laboratorio (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003).

En el examen post mortem las infecciones por *D. filaria* se caracterizan por la presencia de bronquitis y bronquiolitis catarral purulenta, áreas de consolidación rojizas en los lóbulos caudales, enfisema y atelectasias originadas por obstrucción. Además, al efectuar raspados del epitelio de la tráquea y bronquios se observan huevos, L-1, o ambos. Los adultos se localizan en la luz de la tráquea, bronquios y bronquiolos, en los que se aprecia una gran cantidad de mucus; sin embargo, en fases prepatentes, las formas inmaduras sólo se observarán al examinar el mucus bajo estereomicroscopio (Sánchez-Acedo y Del Cacho, 1996). En las fases post-patentes de las infecciones, es más difícil el diagnóstico, porque ya no hay adultos, aunque las lesiones que sobresalen superficialmente en relación con el parénquima normal, permiten sospechar de la infección. Es necesario efectuar un diagnóstico diferencial respecto de otras pneumopatías que cursan con manifestaciones clínicas similares, para lo que hay que



considerar el diagnóstico clínico-epidemiológico, la edad de los animales afectados y la respuesta ante los tratamientos antiparasitarios (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003).

En las protostrongilidosis se observan lesiones pulmonares características, entre las que se incluyen los nódulos verminosos y los de cría que sobresalen de la superficie pulmonar y albergan huevos y L-1 que se pueden evidenciar mediante raspado y posterior observación al microscopio o realizando una migración larvaria con el tejido pulmonar en el que se observan las lesiones.

Como se señaló anteriormente, debido a que las infecciones por *M. capillaris* son las más típicas, se debe tener en cuenta que los nódulos verminosos de *M. capillaris*, se asientan preferentemente en los lóbulos diafragmáticos, tienen un aspecto similar a un mosaico, con predominio del color gris-amarillento o rojizo. La superficie del corte es plana e indefinida, débilmente húmeda y hasta seca, de color más claro que el tejido circundante; también hay hiperplasia del epitelio alveolar. Los de *N. linearis* se sitúan preferentemente en el lóbulo caudal, son de color nacarado, lisos y haciendo relieve; de consistencia blanda y poco profundos en el parénquima y suelen estar rodeados por zonas hiperémicas. Los nódulos verminosos de *C. ocreatus* encierran un nematodo maduro, forman zonas quísticas oscuras de unos 2 mm de diámetro y subpleurales o intrapulmonares. Los adultos de *Protostrongylus* spp se asientan en los bronquiolos, aunque no forman nódulos verminosos típicos, sino sólo una reacción de hiperplasia de los folículos linfáticos peribronquiales. Para obtener los adultos se puede utilizar la perfusión de líquido a presión en el pulmón que permite recuperar ejemplares adultos y juveniles, pero no las larvas ni la mayoría de los estadios inhibidos, por lo que es aconsejable la combinación de la perfusión y la posterior migración larvaria (Eysker *et al.*, 1990).

Entre las técnicas coprológicas destaca la técnica de migración larvaria y, más concretamente, el método de Baermann-Wetzel modificado, siendo la prueba recomendada para el diagnóstico de las infecciones por nematodos broncopulmonares y se considerada como la prueba “*gold standard*” para la detección de estas infecciones en pequeños rumiantes (Díez-Baños *et al.*, 1999; Traversa *et al.*, 2008). En infecciones experimentales con *D. viviparus*, Eysker (1997) comprobó que la técnica era lo suficientemente sensible para detectar una sola hembra de este nematodo. Sin embargo, la migración larvaria también presenta también algunas limitaciones, entre las que cabe destacar que, a pesar de tener 100% de especificidad, su sensibilidad es del 90% por lo que es posible que haya falsos negativos

(Traversa *et al.*, 2008). Además, se necesita disponer de personal especializado para llevar a cabo una correcta detección e identificación de larvas y, por último, el muestreo fecal individual en las granjas y la realización de esta técnica exigen mucho tiempo a los veterinarios clínicos y a los técnicos de laboratorio. Por ello, aunque la utilización de mezcla de heces o “pools” para detectar infecciones por nematodos broncopulmonares ha sido escasamente estudiada; sin embargo, nuestro grupo de investigación (Viña *et al.*, 2013) comprobó que la utilización de pooles es válida para la detección de estas infecciones, en especial, si la prevalencia intra-rebano es media-alta (>15%).

Las muestras fecales deben tomarse directamente del recto de un número representativo de animales del rebaño, tanto cuando se realizan los análisis individuales como cuando se emplea la mezcla de heces. Además, hay que tener en cuenta que, debido al periodo de prepatencia de estos nematodos, las larvas no se observan como mínimo hasta que transcurren 30 días p.i. Como sucede con otras infecciones parasitarias, los resultados de la coprología no son concluyentes, debido a que el número de larvas hallado en las heces no siempre se correlaciona directamente con la carga parasitaria. Además, existen considerables variaciones, incluso diarias, en la eliminación de L-1, cuya discontinuidad se explica por diversos factores, como la edad de los animales, la consistencia de las deyecciones debido al régimen alimenticio y, sobre todo, la diferente localización de los parásitos adultos, así como diferencias apreciables en su capacidad de reproducción y longevidad (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003). No obstante, se admite que 40-50 larvas por gramo de heces (lpg) se corresponden con infecciones débiles, mientras que cuando se contabilizan más de 100 lpg se puede considerar que la infección es intensa.

La L-1 de *D. filaria* es fácil de identificar puesto que, en el extremo anterior, posee un característico botón cefálico; mientras que para identificar las diferentes especies de los protostrongilidos hay que observar al microscopio (400 x) su extremo posterior que es característico en las diferentes especies (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003).

En relación con la **prevalencia e intensidad de las infecciones por nematodos broncopulmonares**, la mayoría de los estudios se han efectuado en ganado ovino, siendo muy escasos los realizados en cabras, a pesar de que diversos autores (Mangeon y Cabaret, 1987; Berrag y Cabaret, 1996; Alemu *et al.*, 2006; Suárez *et al.*, 2014) han señalado que las cabras son más sensibles que las ovejas a las infecciones por nematodos broncopulmonares.



De hecho, en estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación (Cienfuegos *et al.*, 2009) comprobamos que, en cabras explotadas en Galicia, tanto la prevalencia de infección (78,6%) como la intensidad de eliminación (283,2; DE 782,5) de larvas de protostrongílidos era netamente superior a la hallada en los ovinos, lo que confirma la importancia epidemiológica que según (Berrag y Urquhart, 1996) tienen las cabras en la contaminación de los pastos con larvas de Protostrongylidae y en consecuencia en la posterior infección de los ovinos.

En cabras ibéricas (*Capra pyrenaica*) capturadas en Sierra Nevada, tras el examen *post-mortem* de 213 animales, Alasaad *et al.* (2009) comprobaron que el número de adultos estaba correlacionado con el de larvas halladas en el tejido pulmonar ( $p=0,36$ ). Se identificaron 4 especies de nematodos broncopulmonares, siendo el porcentaje y las cifras medias de larvas por gramo de tejido pulmonar de *C. ocreatus* (100%;  $\bar{x}=36,4$ , DE 13,2), *M. capillaris* (95,8%;  $\bar{x}=36,2$ , DE 11,3), *Protostrongylus* sp. (95,8%;  $\bar{x}=16,4$ , DE 5,1) y *D. filaria* (4,2%;  $\bar{x}=0,4$ ). Por el contrario, los estudios realizados sobre la prevalencia de infección por las diferentes especies de protostrongílidos son muy abundantes. No obstante, como se ha comprobado que la prevalencia varía de unos países a otros e, incluso, de unas regiones a otras, solo nos referiremos a los estudios realizados en **ganado ovino en Galicia**. En animales explotados en la provincia de A Coruña, nuestro grupo de investigación (Martínez *et al.*, 1989 a, b; Morrondo *et al.*, 1992 b; Díez-Baños *et al.*, 1989 a, 1994) comprobó que la especie más prevalente era *N. linearis* (71,5%) y en menor proporción encontraron *M. capillaris* (18,8%) y *C. ocreatus* (9,7%). Por el contrario, en heces de ovinos de la provincia de Lugo, Díez-Baños *et al.* (1989 a) y Martínez *et al.* (1989 a, b) observaron que las especies más frecuentes en orden decreciente eran: *M. capillaris*, *N. linearis* y *C. ocreatus*. Sin embargo, en estudios realizados en ganado ovino en pastoreo semiextensivo en diferentes localidades de Galicia, en la última década comprobamos (López *et al.*, 2010, 2011) que, tanto el porcentaje de animales que eliminaban larvas (11,6%) como las especies de protostrongílidos que parasitaban a las ovejas se habían reducido, ya que únicamente se hallaron *M. capillaris* (97,9%) y en mucha menor proporción *N. linearis* (5,5%).

Debido a la escasez de estudios que existen sobre los **factores de riesgo** que intervienen en la prevalencia de las infecciones por nematodos broncopulmonares en cabras, tenemos que referirnos a los estudios realizados en ganado ovino.

En las infecciones por *D. filaria*, tanto en el ganado caprino como en el ovino, se ha comprobado que influye la edad de los animales, ya que en los adultos el ciclo interno se desarrolla más lentamente, siendo el período de prepatencia de 50-80 días, y algunas larvas se destruyen a su paso por los ganglios mesentéricos y el pulmón, de modo que se desarrolla un cierto grado de inmunidad protectora (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003). Además, la edad de los animales, conjuntamente con la inmunidad, limita el número de L-1 en heces, de forma que los adultos eliminan cifras más bajas de lpg que los más jóvenes (Morrondo *et al.*, 1978; Díez-Baños *et al.*, 1989 a; Martínez *et al.*, 1989; Garijo *et al.*, 2007; Cienfuegos *et al.*, 2007).

Asimismo y como ya habían comprobado diferentes autores (Morrondo *et al.*, 1990, 1991 a, b; Ferre *et al.*, 1991; Hidalgo *et al.*, 1995; Díez-Baños *et al.*, 2006, 2009; Cienfuegos *et al.*, 2007, 2009) en la mayoría de las infecciones, *D. filaria* coexisten con varias especies de protostrongílidos. En este sentido, López *et al.* (2011) señalaron que cuando las ovejas están infectadas con *D. filaria* y con protostrongílidos la prevalencia (24,7%) e intensidad de infección por (24,8 lpg) es superior que cuando solo eliminaban larvas de *D. filaria* (10%; 8,0 lpg).

En relación con la posible influencia de las **condiciones edafoclimáticas**, no existen prácticamente estudios que relacionen la prevalencia de la infección por *D. filaria* y las condiciones climáticas. No obstante, se ha observado que sobre el desarrollo de las fases larvarias libres, especialmente de las L-3, influyen la humedad y la temperatura, considerándose estas óptimas entre 10-20°C y 52-100% de humedad relativa (Díez-Baños *et al.*, 1999), 2003; Kusiluka y Kambarage, 2006).

Sobre la **prevalencia de los protostrongílidos**, se ha comprobado que influye la **edad** de los animales. En cabras de raza galega, Béjar (2011) comprobó que la prevalencia e intensidad de parasitación era superior en los animales de mayor edad (100%;  $\bar{x}$  = 244, DE 333) que en los más jóvenes (85,7%;  $\bar{x}$  = 179, DE 251).

En ganado ovino, la mayoría de los autores (Ferre *et al.*, 1991; Berrag y Urquhart, 1996; Díez-Baños *et al.*, 2008; López *et al.*, 2011) señalan que la prevalencia y la eliminación de las larvas de los protostrongílidos se incrementa con la edad de los animales, debido a que los más viejos han tenido más oportunidades de ingerir H.I. adecuados y a que no existe una respuesta inmunitaria total frente a estos parásitos. De hecho, en ganado ovino explotado en semiextensivo en Galicia, López *et al.* (2011), comprobaron que los animales de mayor edad

presentaban porcentajes de infección superiores (14,7%) a los observados en los de menor edad (5,8%).

Respecto al **tipo de manejo**, en el ganado ovino, Morondo *et al.* (1987, 1988, 1992 a) señalaron que debido a que el número de L-3 infectantes que albergan los moluscos que actúan como hospedadores intermediarios en el Noroeste de España es elevado, se puede deducir que la explotación extensiva de las ovejas favorece que éstas ingieran larvas infectantes de forma continua y progresiva, lo que se traduce en que, posteriormente, los hospedadores definitivos presenten mayor prevalencia y eliminación por protostronglidos.

Además, según diversos autores (Cabaret *et al.*, 1986; Richard *et al.*, 1990) sobre la eliminación de larvas de Protostrongylidae también influye el estado fisiológico del animal, señalando que ésta se incrementa en el último mes de gestación.

En estudios realizados por nuestro grupo de investigación (López *et al.*, 2011) comprobamos que, uno de los factores que más influían era la **convivencia de los ovinos con las cabras**, ya que la prevalencia era superior (12,5%) a la hallada cuando no había presencia de cabras (4%). Así mismo, se constató (López *et al.*, 2011) que en los animales de mayor edad, la prevalencia de infección por protostronglidos era superior cuando se introducían ovejas de otros rebaños (20,8%) que cuando no se incorporaban animales de otras explotaciones o estos eran machos (11,8%).

En relación con la utilización de los diferentes **tratamientos antihelmínticos**, según diversos autores (Díez-Baños *et al.*, 1999, 2003; Bowman, 2014) los fármacos empleados contra los protostronglidos son menos eficaces que frente a *D. filaria*, lo que dificulta el tratamiento de estas infecciones en pequeños rumiantes. En cabras se ha demostrado que dosis diarias de 1 mg/kpv de albendazol o de 1,21 mg/kpv de fenbendazol, durante dos semanas, son eficaces contra *M. capillaris*. No obstante, en ganado ovino se ha observado que los tratamientos con bencimidazoles y probencimidazoles son bastante ineficaces frente a los protostronglidos y, en particular, contra *M. capillaris* (Díez-Baños *et al.*, 1995; Rehbein y Visser, 2002; (López *et al.*, 2010).

En las últimas décadas, diversos autores (Rehbein y Visser, 2002; Papadopoulos *et al.*, 2004; Geurden y Vercruysse, 2007; Kírcalı Sevimli *et al.*, 2011) comprobaron que el tratamiento con lactonas macrocíclicas era más eficaz que cuando se utilizaban bencimidazoles. En este sentido, López *et al.* (2010) en ganado ovino explotado en semiextensivo en Galicia, comprobaron que la prevalencia de infección era superior cuando

solo se utilizaban bencimidazoles (10,6%) que cuando se empleaban lactonas macrocíclicas (16,7%).

Respecto a la influencia de las **condiciones climáticas**, en cabras de raza Galega, Béjar (2011) comprobó que aunque la prevalencia era superior en los animales que pastaban en la montaña, por el contrario la intensidad de eliminación era mayor en las cabras explotadas en la zona centro ( $\bar{x}$ = 258, DE 338 lpg) que en las de la montaña ( $\bar{x}$ = 125, DE 198), aunque estas diferencias carecieron de significación estadística.

En ganado ovino en pastoreo continuo en la provincia de A Coruña, Díez-Baños *et al.*, (1994) comprobaron que la prevalencia e intensidad de infección era mayor en los meses más fríos (40,9%; 12,3 lpg) que en los más cálidos (21,9%; 0,7 lpg); asimismo, Cienfuegos *et al.* (2007) señalaron que el porcentaje de animales que eliminaban larvas de protostrongílidos y los valores medios de eliminación de larvas eran superiores en primavera (48,5%; 88 lpg) que en otoño (44,9%; 68,8 lpg).

Además, en los protostrongílidos hay que tener en cuenta que para que se complete el ciclo, en el área donde pastan los animales deben existir **moluscos gasterópodos terrestres que actúen como H.I.** (López *et al.*, 1998, 1997; Morondo *et al.*, 1987, 1988, 1992 a, 2005). Además, según estos autores, el desarrollo de las larvas en los moluscos no es simultáneo, de modo que en un mismo caracol se encuentran distintos estadios de desarrollo, al tiempo que puede hallarse infectados por varias especies de nematodos pulmonares. El desarrollo larvario de *M. capillaris* y *N. linearis* en H.I. adecuados fue más lento en los meses fríos (60 días p.i.) que en los cálidos (15-20 días p.i.). El máximo de L-3 por molusco de ambos parásitos se obtuvo entre finales de primavera y otoño, de modo que este período entraña mayor riesgo de infección para los hospedadores definitivos (Morondo *et al.*, 1987, 1988). No obstante, en el Noroeste de España diversos autores López *et al.*, 1998, 1997; Morondo *et al.*, 1987, 1988, 1992 a, 2005; López *et al.*, 1997, 1998) comprobaron que especies de moluscos como *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis*, *Cochlicella barbara* y *Cernuella (Cernuella) virgata*, permanecen activos durante todo el año, por lo que si albergan L-3 la infección de los hospedadores definitivos es posible en cualquier época; además, estos autores, en condiciones experimentales y naturales, comprobaron que la infección de los hospedadores intermediarios por larvas de protostrongílidos no afectaba a su actividad normal ni aumentaba su mortalidad.

#### 1.4. INFECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR

Las principales infecciones parasitarias que afectan a la reproducción en los rumiantes son las ocasionadas por los protozoos Apicomplexa *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*. Estas infecciones ocasionan importantes pérdidas económicas en las explotaciones, debido a que provocan reabsorción y momificación fetal, abortos y nacimientos de animales débiles o con problemas nerviosos (Dubey y Schares, 2011).

##### 1.4.1. *Toxoplasma gondii*

Es un protozoo intracelular potencialmente capaz de invadir y multiplicarse en cualquier célula nucleada. En su ciclo biológico se distinguen dos fases: una enteroepitelial que ocurre en el hospedador definitivo, que es el gato y otros felinos silvestres (Hutchinson, 1965), y una extraintestinal que tiene lugar en el hospedador intermediario, que puede ser cualquier animal de sangre caliente, incluidos también los felinos.

El ciclo biológico de *T. gondii* es heteroxeno, puesto que en él intervienen los félidos que son los hospedadores definitivos y, en este caso en concreto, las cabras que actúan como hospedadores intermediarios. Los HD se pueden infectar al ingerir alimentos y agua contaminados con ooquistes esporulados o al consumir bradizoítos o taquizoítos procedentes de los hospedadores intermediarios (Dubey *et al.*, 1970). En los felinos tiene lugar la fase sexual del ciclo que concluye con la excreción de ooquistes con las heces. El periodo de prepatencia depende de la fase infectante que haya ingerido el felino, siendo de 3 a 10 días cuando ha ingerido bradizoítos o quistes tisulares y de más de 18 días cuando ha ingerido taquizoítos. Según diversos autores, los gatos primoinfectados excretan ooquistes durante un periodo limitado de tiempo, aproximadamente durante 2 semanas, aunque en las reinfecciones también pueden ocasionalmente eliminar una pequeña cantidad de ooquistes (Dubey, 1977; Davis y Dubey, 1995). En el medio y con condiciones adecuadas de temperatura y humedad, los ooquistes esporulan al cabo de 2-5 días, siendo entonces infectantes para los hospedadores intermediarios (Dubey *et al.*, 1998).

Los rumiantes se infectan cuando ingieren ooquistes esporulados; en su aparato digestivo se liberan rápidamente los esporozoítos que atraviesan la pared intestinal y se diseminan por vía hemática, penetrando en distintas células en las que se multiplican asexualmente con mucha rapidez, dando lugar a quistes de taquizoítos que tienen la pared fina. Los taquizoítos son la forma del parásito característica de la toxoplasmosis aguda o activa, y se desarrollan en

vacuolas en diversos tipos de células como fibroblastos, hepatocitos, células reticulares y células del miocardio; cada una de estas células puede albergar entre 8 y 16 trofozoítos. Llegado ese momento, la célula se rompe y se liberan estas formas parasitarias, que infectan nuevas células. Según Dubey (2010), en la fase aguda de la toxoplasmosis, la respuesta inmunitaria del hospedador se desencadena en aproximadamente 7 días, comenzando a destruir los taquizoítos en sangre y órganos muy irrigados. De este modo sólo se mantienen viables los quistes que están en las zonas más protegidas de la respuesta inmunitaria, como el cerebro, hígado, pulmón o algunos músculos. En estos lugares el metabolismo de *T. gondii* se ralentiza y la multiplicación asexual es más lenta, formando quistes de pared gruesa y forma de lanceta, que pueden albergar varios miles de trofozoítos; en estos quistes la multiplicación está controlada por la inmunidad adquirida del hospedador, pero si la respuesta inmunitaria disminuye los quistes pueden romperse, saliendo los zoítos y continuando la invasión característica de los taquizoítos.

La transmisión horizontal es la vía de transmisión más frecuente en los pequeños rumiantes y se produce cuando estos ingieren los ooquistes esporulados de *T. gondii* (Plant *et al.*, 1974; Faull *et al.*, 1986; Buxton *et al.*, 2007). En el ganado caprino, la transmisión vertical o congénita es infrecuente (Dubey *et al.*, 1986) e incluso se produce con menor frecuencia que en el ganado ovino, en el que Dubey (2010) indicó que sólo el 2% de los animales adquieren la infección por esta vía. No obstante, Santana *et al.* (2013) señalaron que las cabras podrían adquirir la infección por transmisión sexual.

La **manifestación clínica** más importante de la toxoplasmosis en el ganado ovino y caprino es el aborto; no obstante, el mecanismo concreto por el que se produce el aborto se desconoce, aunque según Buxton *et al.* (2007) está relacionado con la parasitemia inicial. Según diversos autores (Dubey, 1986, 2010; Dubey y Schares, 2011), el aborto se produce como consecuencia de la invasión de la placenta y posteriormente de los tejidos fetales por los taquizoítos, especialmente en la primoinfección. No obstante, el cuadro clínico varía con la fase de la gestación en la que se produce la infección (Buxton *et al.*, 2007; Castaño *et al.*, 2016). Si la primoinfección por *T. gondii* ocurre en el primer tercio de la gestación, probablemente se producirá una reabsorción fetal, mientras que el aborto se produce cuando el animal se infecta en el segundo tercio. Si la infección se produce al final de la gestación, frecuentemente nace un cabrito asintomático.



El **diagnóstico de la toxoplasmosis** se puede realizar mediante técnicas directas o indirectas. Entre las directas destacan la observación de *T. gondii* en muestras de líquido cefalorraquídeo o de líquido amniótico, la inoculación a ratón, el cultivo en fibroblastos, la inmunohistoquímica, la detección de antígenos circulantes y la PCR, que es, en la actualidad, la técnica más utilizada porque detecta cualquier fase de la infección y se pueden utilizar muestras de orina, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, sangre circulante y coágulo. Se han desarrollado varias técnicas de PCR para detectar el ADN de *T. gondii*, siendo la secuencia repetitiva B1 y los genes que codifican para la P30 (SAG1) o la subunidad 18S del ARN ribosómico las regiones diana principales. La sensibilidad de la técnica depende del número de copias de la secuencia diana (P30: 1 copia; B1: 35 copias; ARNr: 110 unidades repetidas).

Las técnicas indirectas se basan en la detección de anticuerpos, siendo la más utilizada un ELISA que emplea un antígeno soluble obtenido a partir de taquizoítos de la cepa RH de *Toxoplasma*, permitiendo analizar un importante número de muestras. El ELISA convencional que detecta anticuerpos IgG e IgM específicos frente a *Toxoplasma*, permite un cierto grado de discriminación entre la forma aguda y la crónica de la enfermedad. El ELISA de avidéz se basa en la medida de la afinidad o avidéz de los anticuerpos por su antígeno, y permite diferenciar claramente una infección reciente de otra antigua. Recientemente se ha elaborado un ELISA cinético (KELA) que sirve para medir la tasa de reacción entre el enzima ligado y la solución de substrato que provoca el desarrollo del color. Existe una correlación muy alta entre el ELISA convencional y el KELA, por lo que las dos pruebas son útiles. El ELISA con captura de cadena pesada es más sensible y específico que los anteriores.

La Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) se caracteriza por su simplicidad y amplia utilización; no obstante, posee una baja especificidad debido a la presencia de reacciones cruzadas y, como los resultados se interpretan de modo visual, frecuentemente se pueden producir variaciones subjetivas. La Hemaglutinación Indirecta (HI), tiene el inconveniente de que el antígeno varía con la marca que lo comercializa, por lo que es una técnica poco reproducible y poco útil para detectar infecciones congénitas o agudas. La Aglutinación Directa (DAT) y la Aglutinación con Látex (AL) son técnicas sensibles, específicas y ampliamente utilizadas para detectar anticuerpos de *T. gondii*.



Con respecto a la **seroprevalencia de *T. gondii*** en ganado caprino, los estudios muestran una gran variabilidad; en una revisión sobre la toxoplasmosis, Tenter *et al.* (2000) señalaron porcentajes en ganado caprino que oscilaban entre el 0% y el 77%. Estas notables diferencias pueden deberse a las condiciones climáticas de la zona de estudio, sistema de explotación y manejo de los animales, diseño experimental y metodología empleada (Georgieva *et al.*, 2006; Martins *et al.*, 2011).

En Galicia solo se ha realizado un estudio sobre la infección por *T. gondii* en cabras, en el que Díaz-Cao (2016), utilizando la técnica DAT, comprobó que el protozoo está muy distribuido en las granjas gallegas de este pequeño rumiante, pues porcentaje de rebaños semiextensivos positivos fue del 80%, siendo la seroprevalencia individual del 37,1%. Estos resultados coinciden con los hallados por García Bocanegra *et al.* (2013) en cabras del sur de España, donde el 72,2% de las granjas poseían al menos un animal positivo, mientras que la seroprevalencia individual era del 25,1%, siendo muy similar (27,5%) a la hallada en íbex (*Capra ibex*) de la misma zona de estudio (García Bocanegra *et al.*, 2012). Por el contrario, en ganado caprino de Canarias, Rodríguez Ponce *et al.* (2017) señalaron seroprevalencias más bajas (7,8%), aunque estudios previos mostraban valores mucho más elevados (63,3%; Rodríguez Ponce *et al.*, 1995).

En ganado ovino de España, la seroprevalencia de infección por *T. gondii* varía mucho de unas zonas a otras y también con la técnica utilizada. Los estudios realizados en las décadas de los 70 y 80 muestran los valores de seroprevalencia más elevados. Así, en ovinos explotados en la provincia de Madrid, Aparicio *et al.* (1972), observaron un 50,5% de seropositividad, mientras que en la provincia de Córdoba, Moreno (1983) señaló seroprevalencias del 30-40%. Las investigaciones más recientes señalan porcentajes más reducidos; Sánchez Acedo (1992) observó mediante IFI que el 20,9% del ganado ovino de la provincia de Zaragoza tenía títulos de anticuerpos de 1/80, mientras que con la técnica de FC el porcentaje de seropositivos era netamente inferior (11,6%). Mainar *et al.* (1996), mediante la técnica de aglutinación modificada (MAT), obtuvieron porcentajes del 11,8%. Sin embargo, estudios realizados a mediados de la década de los 90 en ganado ovino de la provincia de Zaragoza muestran porcentajes que oscilaron entre el 31,6 y el 33,72% (Loste, 1995; Marca *et al.*, 1996).

En el noroeste de España, nuestro grupo de investigación (Panadero *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2014; Díaz-Cao, 2016) ha obtenido seroprevalencias de *T. gondii* que oscilan entre el 38 y

el 58%. Estos datos, junto con los obtenidos por Díaz-Cao (2016) en ganado caprino de nuestra Comunidad Autónoma, sugieren que las condiciones climáticas de esta región facilitan la supervivencia de los ooquistes en el medio y, además, que las condiciones de manejo de los animales que permiten el contacto entre los HD y los HI.

Un gran número de trabajos realizados en ganado caprino de diferentes países europeos muestran valores de seroprevalencia elevados; así, se detectaron anticuerpos anti-*T. gondii* en el 50-70% de las cabras de Austria (Edelhofer y Aspöck, 1996), Bulgaria (Prelezov *et al.* 2008), Grecia (Diakou *et al.*, 2013), Italia (Sindoni *et al.*, 1989), Polonia (Michalski y Platt-Samoraj, 2004), República Checa (Bartova y Sedlak, 2012) y Rumania (Iovu *et al.*, 2012). La distribución del protozoo también es elevada en este continente; por ejemplo, en ganado caprino de Polonia, Czopowicz *et al.* (2011) hallaron animales positivos en todas las granjas, con prevalencias intra-rebaño que oscilaron entre el 30,2% y el 100%. Otros estudios muestran porcentajes de exposición menores, como Čobádiová *et al.* (2013) en Eslovaquia (38%), Tzanidakis *et al.* (2002) en Grecia (30,7%), Kantzoura *et al.* (2013) en Grecia (16,8%) o Masala *et al.* (2003) en Cerdeña (12,3%).

En África, las seroprevalencias en ganado caprino oscilan entre el 6,4% detectado en Yibuti (Chantal *et al.*, 1994) y el 81,6% de Nigeria (Arene, 1984). Aunque Teshale *et al.* (2007) hallaron una seroprevalencia elevada (74,8%) en Etiopía mediante una técnica de aglutinación modificada, los estudios más recientes muestran porcentajes más reducidos, como el 27,7% detectado por Maganga *et al.* (2016) en Gabón, o el 15,5% observado en Etiopía por Gebremedhin *et al.* (2014).

La mayoría de los trabajos realizados en ganado caprino en América se han realizado en Brasil; los estudios llevados a cabo en la década del 2000 muestran seroprevalencias que oscilan entre el 24,5% y el 30,6% (Figliuolo *et al.*, 2004; Faria *et al.*, 2007; Araujo *et al.*, 2008), mientras que los datos más actuales muestran un porcentaje mucho más reducido (5,1%; Arraes Santos *et al.*, 2016). Los datos obtenidos en cabras de Asia oscilan entre el 5,1% obtenido en Corea (Jung *et al.*, 2014) y el 29,5% hallado en China (Liu *et al.*, 2015). La mayoría de los estudios señalan porcentajes de seroprevalencia entre el 11,8% y el 13,4% (Bawm *et al.*, 2016; Luo *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016), mientras que Konnai *et al.* (2008), observaron que el 23,6% de las cabras de Filipinas eran seropositivas.

Entre los **factores de riesgo**, la mayoría de los investigadores coincide en que los porcentajes de seroprevalencia de *T. gondii* en pequeños rumiantes están directamente relacionados con la **presencia de gatos** en la granja (Vesco *et al.*, 2007; Araujo *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2015; Bawn *et al.*, 2016), pues juegan un importante papel en la transmisión de este protozoo al ser los únicos HD que eliminan ooquistes al medio, donde son muy resistentes (Dubey y Schares, 2011). Así, en cabras explotadas en China, Liu *et al.* (2015) apreciaron que el riesgo de ser seropositivo a *T. gondii* era 3,2 veces superior en aquellos animales procedentes de granjas donde había gatos. El riesgo de exposición aumenta cuando la densidad de gatos es mayor, lo que, por su condición de animal de compañía, también puede estar relacionado con áreas densamente pobladas por el ser humano (Jokelainen *et al.*, 2010; Arraes-Santos *et al.*, 2016). Sin embargo, la presencia de gatos, y por ello el riesgo de infección, es difícil de cuantificar y muestra notables variaciones dentro de una misma área (Panadero *et al.*, 2010). Tzanidakis *et al.* (2012) señalaron que la presencia de gatos en la explotación no estaba significativamente asociada a un incremento en la exposición al parásito, puesto que esta variable no incluía la presencia de gatos vagabundos, muy frecuentes en el área de estudio (Grecia), que podrían contaminar los pastos con ooquistes. En este sentido, Skjerve *et al.* (1998) comprobaron que la presencia de gatos no estaba asociada con un mayor riesgo de exposición al protozoo; pero, sin embargo, la presencia diaria de gatos jóvenes en la granja sí lo estaba.

Otro de los factores de riesgo identificados en diversas investigaciones es la **presencia de rebaños mixtos** de ovejas y cabras. Gazzonis *et al.* (2015) señalaron que la seroprevalencia de *T. gondii* era superior cuando en las explotaciones conviven ambas especies de pequeños rumiantes. Además, varios estudios sugieren que el ganado ovino es más sensible a la infección por *T. gondii* que el caprino (Stefanakis *et al.*, 1995; Masala *et al.*, 2003; Ntafis *et al.*, 2007; Tzanidakis *et al.*, 2012; Maganga *et al.*, 2016; Rêgo *et al.*, 2016). En este sentido, Hamilton *et al.* (2014) señaló que la mayor seroprevalencia observada en los ovinos puede deberse a la diferente forma de alimentación, ya que las ovejas tienen más posibilidades de ingerir ooquistes al alimentarse de hierba, mientras que en la dieta de las cabras se incluye hojas de arbustos, por lo que la ingestión de ooquistes es menor. Sin embargo, otras investigaciones han señalado mayores valores de seroprevalencia en cabras que en ovejas (Barakat *et al.*, 2009; Ramzan *et al.*, 2009; Diakou *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015). En este

sentido, Diakou *et al.* (2013) afirman que, aún teniendo en cuenta el diferente comportamiento alimentario de ambos pequeños rumiantes, en áreas o épocas donde la vegetación es escasa, tanto cabras como ovejas tienen la misma probabilidad de ingerir ooquistes de *T. gondii*.

Otros estudios han identificado el **tipo de manejo** como un factor de riesgo para la exposición al parásito. Así, Araujo *et al.* (2008) afirmaron que el manejo de los animales en régimen extensivo o semiextensivo está asociado significativamente a mayores porcentajes de seroprevalencia en ganado caprino, puesto que los animales que salen al pasto tienen más posibilidades de contactar con felinos domésticos y silvestres que estén eliminando ooquistes, o con los ooquistes esporulados que contaminan el medio. Además, en Noruega, Skjerve *et al.* (1998) señalaron que los animales manejados en régimen extensivo generalmente pastan en zonas amplias, donde los ooquistes estarían más dispersos y la exposición al parásito sería menor; sin embargo, sacar a los animales a pastos cercanos a las explotaciones implica un mayor riesgo de ser seropositivo a *T. gondii*. Por el contrario, Tzanidakis *et al.* (2012) en Grecia, hallaron mayores seroprevalencias en los animales procedentes de rebaños intensivos y semiextensivos, que relacionaron con una mayor densidad de animales en las granjas; además, en este tipo de explotaciones, las instalaciones permitían que otros hospedadores de *T. gondii*, como gatos o roedores, encontraran cobijo en ellas, permitiendo la concentración de ooquistes en los alrededores de las naves y facilitando la diseminación de la infección. Estos autores también señalan que un manejo más “intensivo” implica un mayor almacenamiento de forraje o concentrado, facilitando la presencia de mayores poblaciones de roedores y muchas veces también de gatos, con objeto de reducir su número, lo que facilita la contaminación accidental del alimento del ganado.

Respecto a la influencia de la **edad** de las cabras sobre la seroprevalencia, la mayoría de los estudios señalan que el riesgo de exposición se incrementa con la edad de los animales (Figueiredo *et al.*, 2001; Figliuolo *et al.*, 2004; Jittapalapong *et al.*, 2005; Ntafis *et al.*, 2007; Rossi *et al.*, 2011; García *et al.*, 2012; Iovu *et al.*, 2012; Hecker *et al.*, 2013; Gazzonis *et al.*, 2015). Así, en cabras de Galicia, Díaz-Cao (2016) observó mayor porcentaje de animales seropositivos en los mayores de 16 meses (39%) que en los de menor edad (18%). En diferentes estudios se estableció que el riesgo de exposición al parásito era entre 2,3 y 21

veces superior en los animales adultos que en los más jóvenes (Teshale *et al.*, 2007; Iovu *et al.*, 2013; Maganga *et al.*, 2016). Debido a que la fuente principal de infección para las cabras es la ingestión de ooquistes esporulados presentes en el ambiente, Dubey y Frenkel (1974) y Dubey y Beattie (1988) señalaron que la asociación positiva entre exposición y edad está relacionada con un efecto acumulativo, de manera que las cabras adultas tienen una mayor probabilidad de haber contactado con los ooquistes (Teshale *et al.*, 2007). Todos estos datos sugieren que la principal vía de transmisión es la horizontal, ya que los animales más jóvenes tienen un menor riesgo de exposición al parásito al alimentarse de leche durante los primeros meses de vida; además, los animales lactantes poseen una mejor protección debido a los anticuerpos que le aporta el calostro (Rossi *et al.*, 2011; Maganga *et al.*, 2016). Por el contrario, la edad no se ha identificado como factor de riesgo en un pequeño número de estudios (Yin *et al.*, 2015; Bawm *et al.*, 2016); estos autores defienden que la transmisión del parásito puede ser fundamentalmente vertical.

Varios autores sostienen que el **sexo** de los pequeños rumiantes influye significativamente en los valores de seroprevalencia por *T. gondii*, siendo los porcentajes significativamente más elevados en las hembras (Van der Puije *et al.*, 2000, Silva *et al.*, 2003; Tamiru *et al.*, 2004; Ntafis *et al.*, 2007; Teshale *et al.*, 2007; Hecker *et al.*, 2013; Arraes-Santos *et al.*, 2016; Maganga *et al.*, 2016; Rêgo *et al.*, 2016). Así, Jittapalapong *et al.* (2005) constataron que las hembras tenían una probabilidad 1,7 veces mayor de ser seropositivos que los machos. Sin embargo estas diferencias se deben más al manejo de los animales que a una diferente receptividad al protozoo de ambos sexos. De esta manera, los machos suelen venderse rápidamente para obtener su carne y solo unos pocos ejemplares se dejan en el rebaño como sementales; por el contrario, las hembras permanecen durante más tiempo en la explotación debido a su importancia como madres o como productoras de leche, lo que incrementa sus posibilidades de infección (Teshale *et al.*, 2007; Arraes-Santos *et al.*, 2016). Sin embargo, otros autores como Tilaye y Getachew (2002) o Cavalcante *et al.* (2008) no hallaron diferencias significativas entre géneros.

En relación con la posible influencia de las **condiciones geoclimáticas**, se han identificado como zonas con un mayor riesgo de exposición al protozoo aquellas con condiciones de humedad elevada y temperaturas moderadas, pues favorecen la supervivencia

de los ooquistes en el medio (Dubey y Beattie, 1988; Wang *et al.*, 2011). Por ello, a nivel mundial, la prevalencia de *T. gondii* es elevada en áreas tropicales húmedas y reducida en zonas cálidas y secas (Meerburg y Kijlstra, 2009). Así, en ganado caprino explotado en las islas Canarias, Rodríguez Ponce *et al.* (2017) apreciaron seroprevalencias significativamente superiores en zonas con clima templado. En Etiopía, Teshale *et al.* (2007) apreciaron mayor riesgo de exposición al protozoo en cabras del sur del país, que posee un clima húmedo y templado, siendo mínimo en la zona central, cálida y seca. Por su parte, en ganado ovino explotado en semiextensivo en Galicia, Panadero *et al.* (2010) hallaron diferencias significativas respecto a la seroprevalencia de *T. gondii* al considerar las condiciones edafoclimáticas de las zonas en las de procedencia de los animales, siendo los porcentajes más reducidos en la zona de la costa; estos autores señalaron que estos resultados pueden deberse a que en esa zona las condiciones climáticas eran menos favorables para la supervivencia de los ooquistes. Sin embargo, no todas las diferencias halladas en diferentes localizaciones se deben a la diferente climatología; de hecho, Panadero *et al.* (2010) señalaron que las menores seroprevalencias detectadas en las ovejas de la costa también podrían deberse a que esa zona está más densamente poblada, por lo que los propietarios no tienen suficiente pasto cerca de las explotaciones y deben llevar a los animales a pastizales más lejanos de los núcleos de población, con un mayor número de animales de compañía, lo que supone un menor riesgo de contactar con los ooquistes. En este sentido, Arraes-Santos *et al.* (2016) también considera como negativa la influencia antropogénica. Otros autores también señalan que la presencia de animales silvestres en una determinada zona puede suponer un incremento del riesgo de exposición al parásito para los animales domésticos, sobre todo si comparten pastos con ellos (Frenkel, 1990; Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010; Teshale *et al.*, 2007).

Rodríguez Ponce *et al.* (2017), en cabras explotadas en las islas Canarias, observaron una asociación negativa entre el **tamaño de granja** y la seroprevalencia, de modo que los animales procedentes de las explotaciones más pequeñas mostraban los mayores porcentajes. Estos resultados podrían deberse a la aplicación, en las granjas más grandes y profesionalizadas, de buenas prácticas de bioseguridad y prevención de enfermedades, incluyendo medidas como el control de roedores y gatos en las instalaciones (Scott *et al.*, 2007, Robert-Gangneux y Dardé, 2012; Cenci-Goga *et al.*, 2013). Por el contrario, en las granjas de menor tamaño, las cabras tienen un manejo más tradicional, que incluye su



estabulación conjunta con otras especies animales, falta de tratamientos antihelmínticos y vacunaciones, higiene deficiente o el contacto con gatos que contaminen el agua, el pasto y las instalaciones con ooquistes de *T. gondii* (Bawm *et al.*, 2016).

#### **1.4.2. *Neospora caninum***

En cerebros y músculos de perros afectados por encefalopatía, Bjerkås *et al.* (1984) observaron un protozoo similar a *T. gondii*, pero fueron Dubey *et al.* (1988), quienes describieron esta nueva especie de parásito (Apicomplexa: Eimeriina: Sarcocystidae) con el nombre de *Neospora caninum*.

Este parásito tiene un ciclo biológico heteroxeno, siendo el perro y otros cánidos, como el lobo, el dingo y el coyote, los HD (McAllister *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 2004b; Dubey y Schares, 2006; King *et al.*, 2010; Dubey *et al.*, 2011), mientras que un amplio número de especies pueden intervenir como HI, entre los que se encuentran los rumiantes domésticos (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2007).

En infecciones experimentales, McAllister *et al.* (1998) y Lindsay *et al.* (1999), comprobaron que los perros eliminaban un reducido número de ooquistes de *N. caninum* sin esporular, cuyo tamaño es de 10-12 µm. En 24 horas, los ooquistes esporulan en el medio ambiente y contienen 2 esporocistos, cada uno con 4 esporozoítos. En la actualidad existen aspectos del ciclo biológico y de la epidemiología del parásito relacionados con el HD que todavía se desconocen; así, no se conoce bien la frecuencia de eliminación de los ooquistes, ni su supervivencia en el medio ambiente, ni si existen más especies de carnívoros que actúen como HD (Neto *et al.*, 2011).

Los ooquistes esporulados son infectantes para los HI; en éstos se dan 2 fases de multiplicación asexual. Los ooquistes se rompen y los esporozoítos, tras quedar libres, atraviesan la pared intestinal y alcanzan las venas mesentéricas. Después de diseminarse por vía sanguínea, penetran en el citoplasma de distintos tipos de células, y en esta localización forman quistes con taquizoítos, que constituyen una fase de multiplicación rápida que invade diferentes tejidos. Si no existiera respuesta inmunitaria por parte del hospedador, la multiplicación rápida de los taquizoítos provocaría una gran destrucción celular que podría ocasionar la muerte del hospedador. No obstante, por extrapolación del comportamiento de *Toxoplasma*, se asume que debido a la respuesta inmunitaria, el hospedador generalmente consigue controlar la infección, aunque no totalmente, manteniéndose en una fase crónica.



Los taquizoítos se transforman en bradizoítos, que se albergan en quistes de pared lisa no septados, de 100-107  $\mu\text{m}$  de diámetro, donde la multiplicación del parásito se realiza de una forma mucho más lenta. Los quistes se localizan fundamentalmente en el sistema nervioso central (cerebro, médula espinal, nervios periféricos), aunque también pueden aparecer en otros tejidos, especialmente en músculo esquelético, placenta y retina, donde provocan una reacción inflamatoria mínima, constituyendo la fase infectante para los HD. Éstos adquieren la infección por ingestión de los quistes titulares (Dubey *et al.*, 2007).

La importancia **clínica, epidemiológica y económica de la neosporosis** en los pequeños rumiantes no está completamente esclarecida. La neosporosis es una de las principales causas de aborto en el ganado vacuno (Dubey y Schares, 2011). En Europa, concretamente en Inglaterra, Dubey *et al.* (1990) observaron por primera vez este protozoo en un cordero infectado congénitamente. Posteriormente, Kobayashi *et al.* (2001) y Koyama *et al.* (2001) aislaron *N. caninum* en placentas de ovejas adultas. En ovinos explotados en el Reino Unido, Helmick *et al.* (2002) constataron que solo 3 de las 660 ovejas que habían abortado presentaban anticuerpos frente a *N. caninum*. No obstante, en diversos estudios experimentales se ha comprobado que el ganado ovino es sensible a la infección por *N. caninum*, puesto que en el feto y en la placenta se observan lesiones similares a las halladas en la neosporosis bovina (Dubey y Lindsay, 1990; McAllister *et al.*, 1996; Buxton *et al.*, 1997). En ganado caprino, los estudios acerca de la importancia de la neosporosis son muy escasos (Abo-Shehadeh y Abu-Halaweh, 2010), aunque varios trabajos han permitido aislar *N. caninum* y describir lesiones asociadas a este protozoo en fetos abortados de cabras (Barr *et al.*, 1992, Dubey *et al.*, 1996, Corbellini *et al.*, 2001, Eleni *et al.*, 2004; Moreno *et al.*, 2012; Unzaga *et al.*, 2014).

En condiciones de campo se ha señalado a *N. caninum* como un posible agente causal de brotes de abortos (Barr y Anderson, 1992; Dubey *et al.*, 1992, 1996; Hässig *et al.*, 2003; West *et al.*, 2006; Howe *et al.*, 2012; González-Warleta *et al.*, 2014) aunque, varios autores la consideran una causa de abortos poco frecuente en pequeños rumiantes (Buxton *et al.*, 2001; Buxton y Rodger, 2007). Además, las formas predominantes de transmisión no están completamente aclaradas puesto que, según Buxton *et al.* (2001), la transmisión vertical podría ser menos frecuente que en ganado vacuno. Por el contrario, González-Warleta *et al.* (2014) describieron un brote de abortos en ovinos de Galicia en los que se aisló *N. caninum*,

comprobando que las lesiones eran similares a las descritas en la neosporosis bovina; así mismo, estos autores señalaron que la transmisión vertical era la responsable del mantenimiento de la infección en el rebaños.

Respecto al **diagnóstico** de *Neospora*, las técnicas directas más utilizadas son el estudio histopatológico, la inmunohistoquímica, la PCR y los aislamientos *in vitro*. El análisis histopatológico de los tejidos del feto es muy relevante, siendo los órganos más adecuados, en orden de importancia, cerebro, corazón e hígado. En cerebro la lesión más característica es la encefalitis necrotizante no supurativa multifocal. La inmunohistoquímica es complementaria de la histopatología, resultando una técnica muy laboriosa y relativamente sensible. La PCR es una técnica de alta sensibilidad y especificidad. En la mayoría de los protocolos, para detectar ADN de *Neospora*, se emplea líquido amniótico (Ho *et al.*, 1997a) o fluido cerebroespinal (Buxton *et al.*, 2001; Peters *et al.*, 2000; Schatzberg *et al.*, 2003); también se puede utilizar en leche de vaca (Moskwa *et al.*, 2003) y en semen de toro (Ortega-Mora *et al.*, 2003; Caetano-da-Silva *et al.*, 2004b; Ferre *et al.*, 2005). Recientemente, Constantin *et al.* (2011) han puesto a punto una PCR en tiempo real que detecta un fragmento del gen 18S rRNA.

Entre las técnicas indirectas, las más utilizadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ELISA. Como en *Toxoplasma*, en la IFI se dispone comercialmente de anticuerpos marcados con fluorescencia para una variedad de especies animales, aunque puede resultar difícil encontrar algunos conjugados específicos de algunas especies y puede haber reacciones cruzadas; además, como los resultados se interpretan visualmente, se pueden producir variaciones subjetivas. Por su parte, el ELISA se puede realizar con muestras de suero o leche, y presenta porcentajes elevados de sensibilidad y especificidad; el más utilizado es el ELISA que emplea como antígeno el extracto soluble de taquizoítos de *N. caninum*. En la actualidad se dispone de un ELISA de avidez, que permite diferenciar sueros de animales con infección aguda (avidez baja) y crónica (avidez alta) (Aguado-Martínez *et al.*, 2005). Recientemente se desarrollaron dos pruebas ELISA que emplean las proteínas recombinantes GRA7 y SAG4, específicas de los estadios de taquizoíto y bradizoíto, respectivamente, que mostraron su utilidad en el diagnóstico de la enfermedad, permitiendo diferenciar entre primoinfección, recrudescencia y neosporosis crónica, siendo un excelente complemento al ELISA de avidez (Aguado-Martínez *et al.*, 2008).

En relación con la **seroprevalencia**, son escasos los estudios relativos a los pequeños rumiantes, especialmente en cabras. Por lo general, los resultados de los estudios epidemiológicos realizados en diferentes países del mundo muestran reducidos valores de seroprevalencia en ganado caprino (Topazio *et al.*, 2014), y que según una revisión de Dubey y Schares (2011) no superan el 23%. Los diferentes métodos de diagnóstico empleados, así como los puntos de corte empleados por cada investigador, son algunas de las causas de las notables diferencias encontradas en el porcentaje de seropositividad entre estudios (Silva *et al.*, 2015).

En ganado caprino explotado en semiextensivo en Galicia, Díaz-Cao (2016) observó que el 60% de los rebaños eran seropositivos a *N. caninum*, aunque únicamente halló una seroprevalencia individual del 2,3%. Estos bajos porcentajes se corresponden con los resultados hallados por Rodríguez Ponce *et al.* (2017) en ganado caprino de Canarias (1,08%), o por García-Bocanegra *et al.*, (2012) en cabras silvestres (*Capra ibex*) del sur de España (5,6%;). Sin embargo, en un estudio previo realizado en ovinos del norte de España, Panadero *et al.* (2010) detectaron anticuerpos frente a *N. caninum* en el 10,1% de los animales analizados.

En ganado caprino explotado en Europa, la mayoría de los estudios señala seroprevalencias reducidas, que oscilan entre el 5,7% y el 9% (Czopowicz *et al.*, 2011; Bartova y Sedlak, 2012; Diakou *et al.*, 2013; Gazzonis *et al.*, 2016), siendo el porcentaje más elevado el hallado en Eslovaquia (15,5%; Cobadiova *et al.* 2013) y los más bajos los de Rumanía y Francia, menores al 2,3% (Chartier *et al.*, 2000; Iovu *et al.*, 2012). En África, sin embargo, la seroprevalencia en Gabón fue muy elevada, del 27,7% (Maganga *et al.*, 2016).

La mayoría de los estudios epidemiológicos sobre la neosporosis realizados en América proceden de Brasil; en este país, las seroprevalencias oscilan entre el 1% y el 15% (Faria *et al.*, 2007; Uzêda *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2008; Andrade *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013; Topazio *et al.*, 2014; Arraes Santos *et al.*, 2016). En otros países americanos las prevalencias son también reducidas: 6,6% en Argentina (Moore *et al.* 2007) y 3,8% en México (Huerta-Peña *et al.*, 2011). Por último, en Asia, una gran parte de los estudios señalan seroprevalencias muy bajas e inferiores al 8,6% (Naguleswaran *et al.*, 2004; Al-Majali *et al.*, 2008; Abo-Shehada y Abu-Halaweh, 2010; Nasir *et al.*, 2012; Jung *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015; Luo *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016), con la excepción de dos trabajos realizados en Filipinas (23,6%; Konnai *et al.*, 2008) y en Turquía (25,9%; Caywaz y Karatepe, 2011).

Entre los principales **factores de riesgo**, un gran número de investigaciones señalan la **presencia de perros** en la explotación, así como de perros vagabundos en sus inmediaciones, como el más importante de todos (Al-Majadi *et al.*, 2008; Abo-Shehada y Abu-Halaweh, 2010; Czopowicz *et al.*, 2011; Topazio *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015; Maganga *et al.*, 2016), ya que, al ser el HD de este protozoo, su intervención es esencial para cerrar el ciclo del parásito (Dubey y Schares, 2011). En China, Liu *et al.* (2015) estimaron que la probabilidad de que las cabras fueran seropositivas se incrementaba 3,2 veces si había perros en la granja. El riesgo aumenta en aquellas granjas donde hay un contacto estrecho entre perros y cabras, sobre todo si los animales se alimentan con concentrado y los perros tienen acceso a los almacenes de alimento (Dubey y Schares, 2011; Topazio *et al.*, 2014; Gazzonis *et al.*, 2016), lo que denota la importancia de la transmisión horizontal. La asociación entre la presencia de perros y la seropositividad y presencia de abortos debidos a *N. caninum* están ampliamente demostrados en ganado vacuno lechero (Pare *et al.*, 1998; Bartels *et al.*, 1999). Debido a que el ser humano suele poseer perros como animales de compañía, algunos estudios suelen relacionar la densidad de población humana con la seroprevalencia en rumiantes, como en ganado vacuno (Schares *et al.*, 2003, 2009). Sin embargo, otros trabajos hallaron que la presencia de perros en la granja no constituía un factor de riesgo importante en los pequeños rumiantes (Figluolo *et al.*, 2004; Machado *et al.*, 2011; Castaneda-Hernandez *et al.*, 2014; Gazzonis *et al.*, 2015).

En Galicia, Díaz-Cao (2016) observó que la seroprevalencia se incrementaba con la **edad de las cabras**, aunque estas diferencias no fueron significativas. Así mismo, Moore *et al.* (2007), Topazio *et al.*, (2014), Gazzonis *et al.* (2016) y Maganga *et al.* (2016) tampoco hallaron una asociación entre la seroprevalencia de *N. caninum* y la edad de los animales. La infección transplacentaria se considera el principal modo de transmisión de *N. caninum* en el ganado vacuno, pero en los pequeños rumiantes, la ausencia de una asociación clara entre la seroprevalencia y la edad sugiere que las dos vías de transmisión, horizontal y vertical, son igualmente viables (Barr *et al.*, 1992; Schares *et al.*, 1998). Los resultados de diferentes estudios orientados hacia la detección de *N. caninum* en fetos abortados, indican que el parásito se puede transmitir vía transplacentaria en los pequeños rumiantes, aunque su importancia real todavía se debe determinar (Eleni *et al.*, 2004; Masala *et al.*, 2007; Abo-Shehada y Abu-Halaweh, 2010). Por el contrario, otros estudios han hallado una asociación entre la edad de los animales y los porcentajes de seroprevalencia (Teshale *et al.*, 2007; Al

Majadi *et al.*, 2008; Varaschin *et al.*, 2011), siendo más elevados en los animales más mayores, sugiriendo una mayor importancia de la transmisión horizontal.

Al considerar la **presencia de ovejas** en los rebaños, los resultados de varias investigaciones que han estudiado rebaños mixtos han constatado que las ovejas muestran mayores valores de seroprevalencia que las cabras (Abo-Shehada y Abu-Halaweh, 2010; Nasir *et al.*, 2012; Diakou *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015; Gazzonis *et al.*, 2016; Maganga *et al.*, 2016). Estos resultados pueden deberse a una mayor receptividad de la oveja a la infección con ooquistes de *N. caninum*. Dubey *et al.* (1990) señalaron que las ovejas eran más receptivas a la inoculación experimental de ooquistes de *N. caninum*, aunque otros estudios lo achacan a su diferente comportamiento alimentario (Dubey y Lindsay, 1996; Diakou *et al.*, 2013), como se comentó anteriormente, aunque en épocas de escasez de vegetación ambas especies tienen el mismo riesgo de contactar con el parásito (Diakou *et al.*, 2013). Además, Abo-Shehada y Abu-Halaweh (2010) también señalaron que las diferencias en la seroprevalencia entre ovejas y cabras pueden deberse a la diferente incidencia de la transmisión vertical en ambas especies de pequeños rumiantes. Así mismo, Chartier *et al.* (2000) sugirieron que la cría conjunta de cabras y vacas podría representar un riesgo para la transmisión de la infección y para la aparición de abortos en ambas especies de rumiantes.

Respecto a la influencia de las **condiciones geoclimáticas**, Panadero *et al.* (2010), en ganado ovino explotado en semiextensivo en Galicia, no detectaron diferencias significativas respecto a la seroprevalencia de *N. caninum* al considerar las condiciones edafoclimáticas de las zonas en las de procedencia de los animales. Por el contrario, en ganado vacuno, diversos autores (Schaes *et al.*, 2003, 2004; López-Gatius *et al.*, 2005) comprobaron que los factores climáticos tales como precipitaciones abundantes y temperaturas medias y mínimas moderadas parecen ser relevantes, afectando sobre todo a la esporulación y supervivencia de los ooquistes, favoreciendo que la transmisión a los HI sea más eficiente (Buxton *et al.*, 1997; Corbellini *et al.*, 2006). En este sentido, Rinaldi *et al.* (2005) encontraron que la temperatura registrada en primavera actúa como un factor de riesgo, de modo que cuanto más elevada era la temperatura mínima, más alta era la prevalencia. Este resultado puede explicarse por el hecho de que la esporulación de los ooquistes de *N. caninum* depende de la temperatura (McAllister *et al.*, 1988; Lindsay *et al.*, 1999; Gondim *et al.*, 2002). Del mismo modo,

Rodríguez-Ponce *et al.* (2017) únicamente detectaron anticuerpos anti-*N. caninum* en cabras de Tenerife y La Palma, lo que indica que la distribución del protozoo se limita a zonas de elevada humedad relativa, que también se relaciona con una mayor supervivencia de los ooquistes en el ambiente (Faria *et al.*, 2007). Además, Gazzonis *et al.* (2016) constataron que la altitud donde se encontraban los animales constituía un factor de riesgo para la exposición al parásito, siendo las seroprevalencias más elevadas en zonas localizadas a mayor altitud, donde existían poblaciones más importantes de animales silvestres; de todos modos, el papel de la fauna silvestre como reservorio de *N. caninum* para los rumiantes domésticos todavía debe clarificarse (Almería *et al.*, 2007; Panadero *et al.*, 2010; Donahoe *et al.*, 2015).

En relación con la posible influencia de la **raza**, Nasir *et al.* (2012) hallaron menor seroprevalencia de infección por *N. caninum* en cabras de razas rústicas y autóctonas que en las procedentes de cruces. Del mismo modo, Teshale *et al.* (2007) en ganado caprino de Etiopía, apreciaron que la seroprevalencia en los cruces (9,7%) era superior a la observada en cabras de raza Beetal (7,2%). Otros autores hallaron las mayores prevalencias en razas puras de cabras, como la Nera di Verzasca (Gazzonis *et al.*, 2016) o la cabra de Damasco (Al Majadi *et al.*, 2008). En México, Huerta-Peña *et al.* (2011) señalaron que la raza Alpina parecía más sensible a la infección que la Saanen y la Toggenburg, ya que la seroprevalencia era el doble; sin embargo, concluyeron que todas las razas tenían la misma susceptibilidad a la infección debido a la ausencia de diferencias significativas.

Varios estudios afirman que el **sistema de manejo** de los animales constituye un riesgo de contacto con el parásito, sobre todo aquellos que supongan la salida a pastos, como el pastoreo en extensivo (Al-Majadi *et al.*, 2008; Czopowicz *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2013; Gazzonis *et al.*, 2016). Estos resultados sugieren la posibilidad de contaminación del pasto y el agua con heces procedentes de perros u otros HD, y refuerzan la hipótesis de la importancia de la vía horizontal en la epidemiología del parásito.

Al considerar si el **sexo** de los animales podría constituir un mayor riesgo de exposición a *N. caninum*, Teshale *et al.* (2007) observaron que las hembras mostraban una mayor prevalencia (10,2%) que los machos (6,2%), aunque estas diferencias no fueron significativas,



coincidiendo con los resultados de Faria *et al.* (2007), Topazio *et al.* (2014), Maganga *et al.* (2016) y Luo *et al.* (2016).

Varios autores defienden que la seroprevalencia está inversamente relacionada con el **tamaño de granja**, siendo mayor en animales procedentes de granjas pequeñas (Al-Majadi *et al.*, 2008; Gazzonis *et al.*, 2016). Estos resultados parecen deberse a un manejo más “tradicional” (menos profesionalizado) de los animales, que generalmente se relaciona con medidas higiénicas y de manejo deficientes, así como una mayor probabilidad de que existan perros sueltos en las explotaciones; todo ello facilitaría el mantenimiento de las infecciones en el rebaño, sugiriendo que la vía horizontal podría tener un papel importante en la diseminación del parásito (Liu *et al.*, 2015). Por el contrario, en Brasil, Santos *et al.* (2013) constataron que los animales procedentes de granjas de mayor tamaño, de más de 25 animales, tenían 6,5 veces mayor probabilidad de ser seropositivos a *N. caninum*, lo que estaba relacionado con la mayor dificultad de aplicar medidas para evitar que los perros ingieran placentas u otro material infeccioso. En cabras de Canarias, Rodríguez-Ponce *et al.* (2007) observe que la seroprevalencia era significativamente más elevada en granjas de entre 101 y 400 animales.









## **2 OBJETIVOS GENERALES**



## 2. OBJETIVOS GENERALES

Basándonos en los antecedentes expuestos en el apartado anterior, nos planteamos obtener los siguientes **OBJETIVOS**:

1º. Determinar la prevalencia e intensidad de eliminación de los principales parásitos que afectan al aparato digestivo (coccidios eiméricos, cestodos, trematodos y nematodos gastrointestinales) y respiratorio (nematodos broncopulmonares) en ganado caprino explotado en Galicia.

2º. Identificar los géneros y/o especies de los principales parásitos que afectan al aparato digestivo y broncopulmonar de las cabras en Galicia.

3º. Conocer la seroprevalencia por parásitos que afectan al aparato reproductor (*Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*) de las cabras en Galicia.

4º. Determinar los principales factores de riesgo, tanto intrínsecos (edad, sexo, raza) como extrínsecos (sistema de manejo, tamaño del rebaño, convivencia o no con ovejas, realización de desparasitaciones, integración en una AD SG, temperatura media, precipitación, altitud y zona geográfica donde se localizaba la granja), que influyen sobre la prevalencia y la intensidad de eliminación de estas infecciones parasitarias.





**3 ESTUDIOS REALIZADOS**





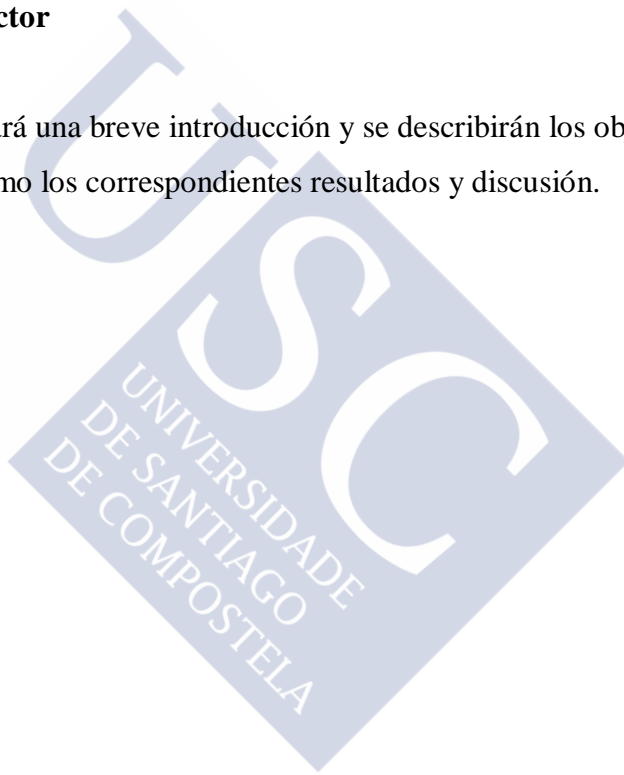
Esta Tesis Doctoral se compone de los siguientes trabajos, en los que se analizan los factores de riesgo que influyen sobre las infecciones parasitarias que afectan a los aparatos:

**ESTUDIO I: Digestivo**

**ESTUDIO II: Respiratorio**

**ESTUDIO III: Reproductor**

En cada Estudio se realizará una breve introducción y se describirán los objetivos y materiales específicos utilizados, así como los correspondientes resultados y discusión.







## **ESTUDIO I: Estudio de los parásitos que afectan al aparato digestivo**



### 3.1. Estudio de los parásitos que afectan al aparato digestivo

#### 3.1.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las principales infecciones digestivas de etiología parasitaria de las cabras son las producidas por protozoos (coccidios eiméricos), cestodos (*Moniezia*), trematodos (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum* y anfistomas) y nematodos (*Trichuris*, *Nematodirus*, estrongílicos).

Las infecciones por *Eimeria* spp. causan notables mermas económicas en las explotaciones de ganado caprino, relacionadas principalmente con la disminución de las producciones e incluso pueden conllevar elevados porcentajes de mortalidad en los cabritos (Jalila *et al.*, 1998; Ruíz *et al.*, 2013). Aunque en un principio se creyó que ovejas y cabras compartían las mismas especies de *Eimeria*, hoy se estima que cada hospedador tiene sus propias especies (Hidalgo y Cordero, 1999; Smith y Sherman, 2009). Además, en ganado caprino, son escasos los estudios realizados sobre las infecciones por *Moniezia* (Béjar, 2011) y, por consiguiente, se desconoce las repercusiones que este cestodo puede tener sobre la producción en este rumiante.

Entre las infecciones ocasionadas por trematodos se ha comprobado que, en Galicia, debido a que las condiciones edáficas y climáticas favorecen el desarrollo del ciclo, *F. hepatica* es una de las parasitosis más frecuentes y de mayor trascendencia económica en los rumiantes (Sánchez-Andrade *et al.*, 2001; Pedreira *et al.*, 2003; Pérez-Creo *et al.*, 2016 a, b); no obstante, se ha señalado que la prevalencia de infección es superior en las ovejas que en las cabras (Afshan *et al.*, 2013). Las infecciones por anfistomas o paranfistómidos no suele cursar con sintomatología evidente, aunque cargas parasitarias elevadas pueden comprometer el estado nutricional, la producción y el crecimiento de los animales (Padungtod *et al.*, 2001); sin embargo, diferentes autores han señalado que es una parasitosis a la que no se le ha prestado la debida atención (Castro-Trejo *et al.*, 1990; Mage *et al.*, 2002). Así mismo, la dicroceliosis generalmente pasa desapercibida debido a que sus efectos patógenos están enmascarados por otras enfermedades y a que las pérdidas económicas que ocasionan son

menos evidentes que las causadas por otros trematodos, como *F. hepatica*, por lo que a las infecciones por *D. dendriticum* no se les ha concedido la importancia real que tienen (Rojo-Vázquez, 1986; Otranto y Traversa, 2003).

Los nematodos gastrointestinales son parásitos muy prevalentes en los rumiantes y pertenecen a diversas familias y géneros, siendo los más frecuentes *Trichuris*, *Capillaria* y *Nematodirus* junto con otros géneros que se incluyen dentro de los strongílidos (Meana y Rojo, 1999; Mehlhorn, 2008; Bowman, 2014). No obstante, la mayoría de los autores coinciden en señalar que las infecciones por los nematodos gastrointestinales son mixtas y en ellas participan dos o más géneros y varias especies, lo que explica la denominación general de «gastroenteritis parasitarias» (Meana y Rojo, 1999). Sin embargo, los diferentes géneros de strongílidos y su prevalencia varían notablemente con la zona de procedencia de los rebaños, edad de los animales, época de muestreo, etc. (Meana y Rojo, 1999; Díaz *et al.*, 2005).

Basándonos en estas consideraciones y en los antecedentes que se que se han desarrollado con más amplitud en el correspondiente apartado, nos planteamos los siguientes **OBJETIVOS:**

- 1º. Conocer la prevalencia y eliminación de coccidios, cestodos, trematodos y nematodos gastrointestinales del ganado caprino explotado en Galicia.
- 2º. Determinar cuáles son los principales factores de riesgo que influyen sobre la prevalencia de estas infecciones parasitarias.
- 3º. Realizar la identificación genérica y/o específica de los principales parásitos que afectan al aparato digestivo de las cabras en Galicia.

### **3.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

En este primer estudio, se hace una descripción de las características del área de estudio y de los animales, así como de los análisis estadísticos utilizados, que al ser común en los otros 2 estudios, no se reiterarán. No obstante, y debido que el número de cabras muestreadas fue diferente en los 3 estudios se especificará en el correspondiente apartado de factores de riesgo.

### 3.1.2.1. Características del área de estudio y de los animales

A Galicia, por su situación en el noroeste de la Península Ibérica, le corresponde un clima oceánico que, según Rodríguez Rajo *et al.* (2003), se caracteriza por ligeras variaciones de temperatura, siendo la temperatura media anual de 14,3° C y las medias de las temperaturas máximas y mínimas de 20,0° C y 9,6° C, respectivamente. Las precipitaciones anuales (1.584 mm) son abundantes aunque irregulares, registrándose los valores más elevados en los meses de invierno y los más bajos en verano. No obstante, en Galicia existen variaciones edafoclimáticas ostensibles que permiten definir varias zonas (Carballeira *et al.*, 1983). Basándonos en estudios previos realizados en nuestro grupo de investigación (Lago *et al.*, 2012), al tener en cuenta las condiciones orográficas y bioclimáticas que, a su vez, determinan el manejo de las cabras, en Galicia se diferencian 2 áreas: **costa-centro** y **montaña** (Figura 3.1.1.).

La **zona de montaña** está formada por las principales cadenas montañosas de Galicia (O Xistral, Ancares, O Courel, O Eixo, Manzaneda, O Faro, Cova da Serpe, Montemaior y O Xurés). La altitud oscila entre 650 y 1285 m, con pendientes muy acusadas. El **clima es pirenaico** y se caracteriza por bajas temperaturas (10°C de media anual), elevadas precipitaciones (>1500 mm) y ausencia de déficit hídrico (0 a -50 mm).

La **zona de la costa-centro** comprende los municipios costeros de las provincias de A Coruña, Lugo y Pontevedra y la meseta central. La altura media se sitúa entre 0 y 650 metros a nivel del mar; la pendiente es moderada en las zonas costeras, y más suave en las áreas del centro. El **clima es marítimo-templado**, caracterizado por una temperatura media anual de 13°C, precipitaciones anuales inferiores a los 1500 mm y déficit hídrico moderado (-100 mm).

En el año 2014, en Galicia estaban censadas 44.494 cabras (Consellería do Medio Rural, 2015) que se distribuyen en un elevado número de explotaciones (5.846), lo que indica que existen muchos rebaños de pequeño tamaño ( $\bar{X}$ = 7,6 animales/rebaño). Además, un considerable porcentaje (47,7%) de estas granjas son mixtas, integradas por ganado caprino y ovino, siendo estos últimos la principal fuente económica, mientras que las cabras se destinan fundamentalmente al autoconsumo o venta ocasional. La mayoría de los animales que se encuentran en las granjas de caprino de Galicia proceden de cruces de diferentes razas, mientras que las cabras de aptitud láctea sólo constituyen un pequeño porcentaje. Además,



también se pueden encontrar animales de raza "Cabra Galega", que están inscritos en el libro genealógico gestionado por la Asociación de Gandeiros da Raza Cabra Galega (CAPRIGA).

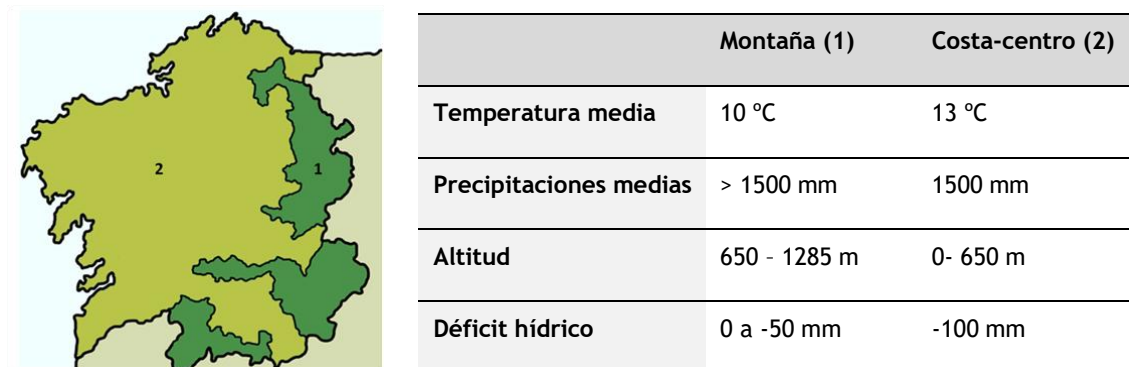


Figura 3.1.1. Condiciones bioclimáticas y orográficas en Galicia

El muestreo se realizó de forma que los rebaños incluidos finalmente en el estudio representaran a todas las zonas agro-ganaderas de Galicia. En la zona costa-centro, y dependiendo de las condiciones climáticas, los animales pastan normalmente entre 6 y 9 horas al día, en pequeños prados que están próximos a la granja y por la noche se estabulan. En la montaña, se explotan rebaños integrados, generalmente, por un mayor número de animales que en la zona costa-centro y, cuando las condiciones climatológicas lo permiten, las cabras pastan en prados de mayor tamaño y más alejados de las explotaciones, por lo que solo se estabulan cuando las condiciones climáticas son más adversas, o cuando existe riesgo de ser atacados por sus depredadores. Estas diferencias de manejo condicionan la densidad de animales en los pastos y el riesgo de infección de los animales.

El manejo de la cría de las cabras es el típico de rebaños semiextensivos de carne, de modo que los cabritos permanecen estabulados con sus madres en grupos de 5-10 animales durante 3-7 días tras el parto. Posteriormente se integran dentro del rebaño con los adultos o, por el contrario, se mantienen sin salir al pasto, en un redil separado del resto de animales hasta que son destetados a los 2-3 meses de edad. Todos los animales son amamantados por sus madres y cuando las crías se mantienen en un grupo independiente de los adultos, se les permite el contacto con su madre una o dos veces al día para que se alimenten.

### 3.1.2.2. Factores de riesgo

En cada una de las granjas, al tiempo que se realizaba la toma de muestras, se efectuó una encuesta epidemiológica al propietario, donde se recogieron datos acerca del titular de la granja, código de explotación agraria, localización de la misma, tipo y orientación productiva, censo de animales, proximidad a otras explotaciones y presencia o ausencia de ovinos, si pertenecían o no a una Asociación de Defensa Sanitaria (ADS). También se tomaron datos relativos a la realización de desparasitaciones y se anotó si se había detectado algún problema de etiología infecciosa o parasitaria en los últimos años. A través de las hojas de calificación sanitaria de la explotación, se verificó el censo y se obtuvo la edad de los individuos expresada en meses, tomando como referencia su fecha de nacimiento y la fecha del muestreo. Así mismo, se tuvo en cuenta, la temperatura media (°C), precipitación (mm) y altitud (m) de las áreas de pastoreo y la zona geográfica.

En la Tabla 3.1.1. se resume el número de muestras recogidas para establecer la prevalencia de infección por ooquistes de protozoos y por huevos de cestodos, trematodos y nematodos gastrointestinales.

### 3.1.2.3. Análisis coprológicos

Las heces se tomaron directamente del recto de las cabras con guantes de plástico y se conservaron a 4°C hasta su procesamiento, que se realizó antes de que transcurriesen 48 horas desde la recogida. Cada una de las muestras de heces se analizó por duplicado empleando las técnicas de flotación y sedimentación (Manual de Técnicas del Laboratorio Central Veterinario de Weybridge, M.A.F.F., 1986) que se detallan brevemente.

Para evidenciar los ooquistes de coccidios, así como, los huevos de cestodos y nematodos gastrointestinales, se empleó la **técnica de flotación**, debido a que estas formaciones parasitarias flotan en soluciones de densidad superior a la del agua ( $>1,2 \text{ g ml}^{-1}$ ). Se tomaron 3 gramos de cada muestra que se introdujeron en un frasco de plástico de 150 ml de capacidad y se añadieron 42 gramos de agua corriente. Con objeto de obtener una mezcla homogénea, se agitó el contenido del frasco y la emulsión resultante se filtró a través de una malla de 150  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro para eliminar los detritus de gran tamaño. Con el filtrado se rellenaron dos tubos de 15 ml que se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos para que las formaciones parasitarias se depositaran en el fondo. Se eliminó el sobrenadante con ayuda de

una bomba de vacío y el sedimento se homogeneizó en una solución de cloruro sódico en saturación ( $\rho = 1,19$ ), completando un volumen de 15 ml.

**Tabla 3.1.1. Número de muestras examinadas al considerar los diferentes parásitos y los factores de riesgo**

Variables		Coccidios	Moniezia	Trematodos			Nematodos gastrointestinales		
				Fasciola	Dicrocoelium	Paranfistómidos	GIN	Nematodirus	Trichuris
Edad (meses)	<12	20	20	20	20	20	20	20	20
	13-48	210	210	188	188	188	210	210	210
	> 48	202	202	172	172	172	202	202	202
Sexo	Hembra	391	391	343	343	343	391	391	391
	Macho	41	41	38	38	38	41	41	41
Raza	Cruce	136	136	124	124	124	136	136	136
	"Galega"	255	255	212	212	212	255	255	255
	De leche	41	41	45	45	45	41	41	41
Sistema de manejo	Intensivo	41	41	52	52	52	41	41	41
	Semiextensivo	362	362	310	310	310	362	362	362
	Extensivo	29	29	19	19	19	29	29	29
Tamaño de rebaño. (Nº animales)	< 96	107	107	82	82	82	107	107	107
	96-194	105	105	86	86	86	105	105	105
	> 194	220	220	213	213	213	220	220	220
Presencia de ovejas	No	225	225	196	196	196	225	225	225
	Si	207	207	185	185	185	207	207	207
Desparasita	No	41	41	35	35	35	41	41	41
	Si	391	391	346	346	346	391	391	391
ADSG	No	82	82	65	65	65	82	82	82
	Si	350	350	316	316	316	350	350	350
Tª media (°C)	Hasta 10	90	90	69	69	69	90	90	90
	Más de 10	342	342	312	312	312	342	342	342
Precipitación (mm)	< 800	159	159	150	150	150	159	159	159
	800-1000	112	112	96	96	96	112	112	112
	> 1000	161	161	135	135	135	161	161	161
Altitud (m)	Alta (>490m)	318	318	236	236	236	318	318	318
	Baja (<490m)	114	114	145	145	145	114	114	114
Área geográfica	Costa-Centro	243	243	216	216	216	243	243	243
	Montaña	189	189	165	165	165	189	189	189
Total		432	432	381	381	381	432	432	432

Finalmente se llenaron las dos celdillas de la cámara McMaster, y el número de huevos u ooquistes por gramo de heces (hpg/opg) se calculó mediante la fórmula:

$$\text{nº hpg/opg} = \left( \frac{(\text{nº huevos / ooquistes observados}) \times 45 \text{ ml}}{0,30 \text{ ml}} \right) / 3 \text{ g}$$

Se utilizó la **técnica de sedimentación**, para observar los huevos de los trematodos, puesto que éstos son más pesados que los detritus y quedan depositados en el fondo de copas cónicas. En un frasco de plástico con perlas de vidrio y agua se depositaron 4 gramos de heces y tras su homogeneización, se filtró la emulsión resultante a través de una malla de 150 µm de diámetro de poro, que permite el paso de los huevos de trematodos y retienen los detritus de mayor tamaño. Posteriormente, el líquido filtrado y el obtenido tras el lavado a presión de la malla se depositaron en copas cónicas de sedimentación de un litro y se añadió agua hasta completar este volumen (Figura 3.1.2.).



Figura 3.1.2. Copas de decantación empleadas en la técnica de sedimentación

Al cabo de 20 minutos se retiró el sobrenadante, de forma que el sedimento quedase en un volumen de agua de 200 ml; tras su homogeneización se añadió agua hasta completar 500 ml. Después de 20 minutos se repitió el proceso y se concentró a 100 ml y finalmente, tras otros 20 minutos, se concentró a 20 ml. El sedimento se homogeneizó y con él se rellenaron las 2 celdillas de la cámara de McMaster (0,30 ml).

Cada muestra se examinó al microscopio con el objetivo de 10x y se anotaron los huevos de los trematodos hallados dentro de las 2 celdillas de la cámara. El número de huevos por gramo de heces (hpg) se calculó según la siguiente fórmula:

$$\text{nº hpg} = \left( \frac{(\text{nº huevos observados}) \times 20 \text{ ml}}{0,30 \text{ ml}} \right) / 4 \text{ g}$$

#### 3.1.2.4. Identificación genérica y específica

##### a) *Especies de Eimeria*

En aquellas explotaciones en las que se detectó al menos un animal positivo a este protozoo, se procedió a la identificación específica de los ooquistes de *Eimeria*. Se realizaron pooles de las muestras positivas, que se dividieron en tres grupos considerando la edad de los animales ( $\leq 12$  meses, 13-48 meses,  $> 48$  meses).

Para poder identificar las especies de *Eimeria* presentes, en primer lugar los ooquistes se esporularon empleando el siguiente protocolo descrito por Hendrix (1998): las heces se homogeneizaron con dicromato potásico al 2,5% y se depositaron en una placa de Petri, incubándola a 20°C durante 10 días. Con objeto de oxigenar los ooquistes y permitir que esporulen, la placa se abrió diariamente y se removió suavemente su contenido. Transcurrido el período necesario para la esporulación, el contenido de la placa se centrifugó a 380 x g durante 5 minutos. Una vez descartado el sobrenadante, se agitó bien el tubo para homogeneizar el sedimento y se añadió solución de sacarosa ( $\rho = 1,27 \text{ g ml}^{-1}$ ) hasta formar un menisco en la parte superior del tubo. Sobre el tubo se colocó un cubreobjetos (18 x 18 mm) y se centrifugó a 380 x g durante 10 minutos para que los ooquistes se adhirieran al cubreobjetos.

El cubreobjetos con los ooquistes se colocó sobre un portaobjetos y éstos se observaron a 400 y 1000 aumentos (Figura 3.1.3.). Para realizar el análisis morfométrico de los ooquistes, necesario para poder identificar la especie de *Eimeria*, se utilizó un ocular micrométrico Olympus WHK 10X/ 20L; así se midió la longitud y anchura del ooquiste (Tabla 3.1.2.). Para diferenciar las distintas especies también se tuvo en cuenta la presencia o no de micrópilo, y en el caso de existir, si éste presentaba además cápsula micropilar (Eckert *et al*, 1995; Taylor *et al.*, 2007; Smith y Sherman, 2009).



Figura 3.1.3. Estudio morfométrico de las especies de *Eimeria*

Para la identificación de las especies de *Eimeria* se utilizaron las claves de Taylor *et al.* (2007), que se resumen en la Tabla 3.1.2.



Tabla 3.1.2. Claves utilizadas en la identificación de las especies de *Eimeria* (Taylor *et al.*, 2007)

	Ooquiste				
	Morfología	Micrópilo	Cápsula micropilar	Coloración	Tamaño medio(μm)
<i>E. alijevi</i>	Ovoide, elipsoidal	No	No	Amarillo	17 x 15
<i>E. arloingi</i>	Elipsoidal	Si	Si		27 x 18
<i>E. aspheronica</i>	Ovoide	Si	No	Verde , amarillo-marrón	31 x 32
<i>E. caprina</i>	Elipsoidal	Si	No	Marrón, marrón amarillento	32 x 23
<i>E. caprovina</i>	Elipsoidal a subesférico	Si	No		30 x 24
<i>E. christensenii</i>	Ovoide	Si	Si	Amarillo pálido	38 x 25
<i>E. hirai</i>	Oval, redondeado	Si	Si	Amarillo	20,7 x 16,2
<i>E. jolchijevi</i>	Elipsoidal u oval	Si	Si	Amarillo pálido	31 x 22
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	Elipsoidal	No	No	Amarillo pálido	20,7 x 14,8

#### b) Huevos de cestodos

La identificación de los huevos de *Moniezia* se basó en su morfología, siendo ésta muy característica debido al grosor de la cubierta (Figura 3.1.4.) y, sobre todo, el típico aparato piriforme (Ramajo y Muro, 1999).

Figura 3.1.4. Huevo de *Moniezia* en el que se aprecia el aparato piriforme



**c) Huevos de trematodos**

Los de *Fasciola hepatica* son elipsoidales, de color amarillento y miden 130-150 x 63-90  $\mu\text{m}$  (Rojo-Vázquez *et al.*, 1989), mientras que los de la subfamilia Paramphistominae son de mayor tamaño (140-158 x 72-85  $\mu\text{m}$ ) y de color más claro (Muro y Ramajo, 1999), por lo que son relativamente fáciles de diferenciar (Figura 3.1.5.).



Figura 3.1.5. Huevos de *F. hepatica* y de paranfistómido

Los huevos de *Dicrocoelium dendriticum* son de menor tamaño (36-45 x 22-30  $\mu\text{m}$ ), operculados, de pared gruesa y color marrón oscuro (Fig. 3.1.6.); en su interior se aprecian con dos manchas grandes de color más oscuro que se corresponden con las masas germinales (Manga y Quiroz, 1999).



Figura 3.1.6. Huevo de *D. dendriticum*

#### d) *Nematodos gastrointestinales*

En el caso de los **nematodos gastrointestinales**, se realizó la identificación de *Nematodirus* y *Trichuris* basándonos en la morfología característica de los huevos (Figura 3.1.7.). Los huevos de *Trichuris* spp. tienen forma de limón, color pardo-amarillento, con una cáscara gruesa y 2 tapones polares hialinos. Miden 70-80 x 30-42  $\mu\text{m}$  (Hidalgo y Cordero, 1999). Los de *Nematodirus* spp. son los de mayor tamaño (130-260 x 67-121) y se reconocen fácilmente porque en su interior tienen 8 blastómeros (Meana y Rojo-Vázquez, 1999).

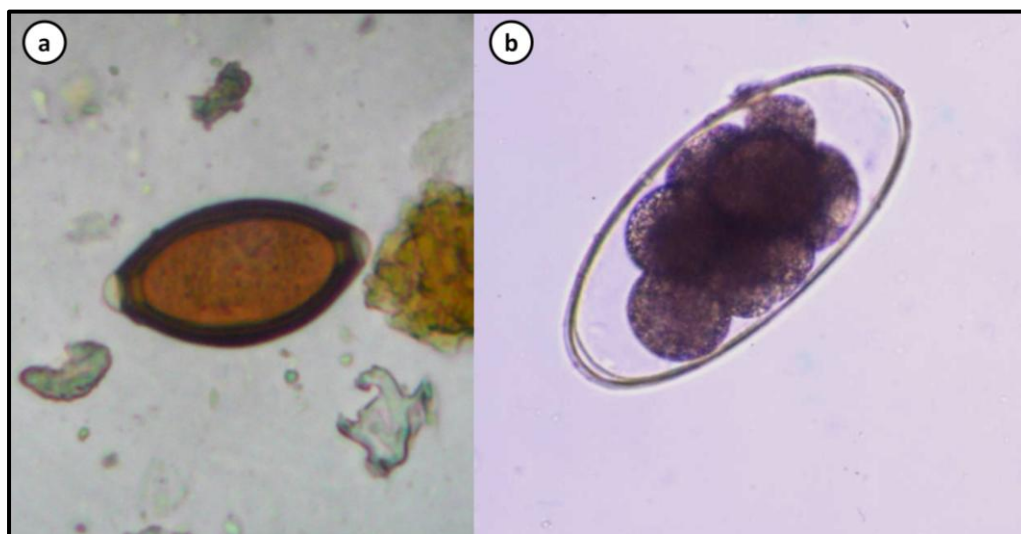


Figura 3.1.7. Huevos de *Trichuris* (a) y *Nematodirus* (b)

El resto de los huevos de nematodos gastrointestinales son difíciles de identificar porque su morfología es similar. Por ello, se realizaron cultivos de las heces con el fin de obtener larvas de tercer estadio que son las que permiten su identificación con una mayor facilidad.

Los coprocultivos se efectuaron a partir de una mezcla homogénea de las heces de los animales de una misma explotación; se depositaron 100 gramos de la muestra en cristalizadores de vidrio de 7 cm de diámetro y 7 cm de altura, procurando que las heces no sobrepasaran los 2 cm de altura para favorecer la aireación del cultivo. Si el aspecto de las heces era muy seco se humedecían adecuadamente. Los cristalizadores se cubrieron totalmente con bolsas de polietileno a las que se les practicó unos orificios en la parte superior para evitar la anaerobiosis. A continuación se colocaron en una estufa a 27°C, en oscuridad, y se incubaron durante 15 días; para que la humedad relativa dentro de la estufa fuera elevada se introdujo un pocillo con agua. Además, para evitar el crecimiento de hongos y al mismo

tiempo mejorar la aireación y controlar la humedad, se removían diariamente los cultivos con una espátula estéril.

Para obtener las larvas, una vez transcurrido el tiempo de incubación, las heces del coprocultivo se colocaron en dispositivos Baermann y se siguió la técnica de migración larvaria. Posteriormente se procedió a su recuento e identificación y con objeto de evitar el movimiento de las larvas se añadió una gota de yoduro de lugol (Aparicio, 1966). Con ayuda de una regla tallada en el ocular de un microscopio Olympus C-2, cuya relación entre el objetivo empleado y el tamaño de la unidad de regla se resume en la Tabla 3.1.3., se realizaron las medidas que se consideran más importantes para la identificación de las larvas.

Tabla 3.1.3. Relación entre los objetivos empleados y el tamaño de unidad de regla

Objetivo	Valor de una unidad
4x	25
10x	10
40x	2,5

La identificación genérica se hizo según las descripciones realizadas por diferentes autores (Borgsteede y Hendriks, 1974 y Van Wyk *et al.*, 2004), en el siguiente esquema, se resumen las principales medidas que tuvimos en cuenta (Figura 3.1.8.): longitud total (a), longitud del esófago, longitud ano-extremo final con vaina -cola de la vaina- (d), longitud ano-extremo final sin vaina -cola de la larva- (e) y longitud extremo final sin vaina-extremo final con vaina -porción distal- (c).

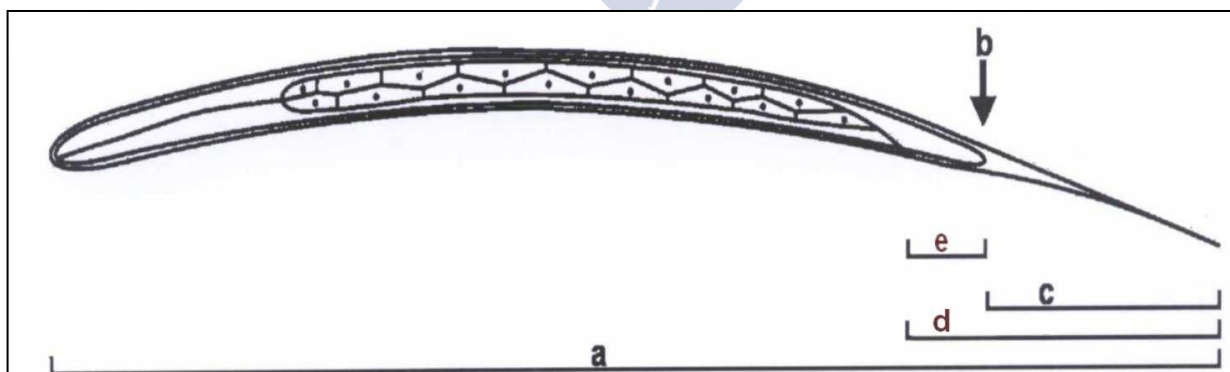


Figura 3.1.8. Medidas y estructuras que se consideraron para la identificación de los géneros de estrombílidos

### 3.1.2.5. Análisis estadísticos

La positividad se analizó mediante una regresión logística de efectos mixtos. Como variable dependiente se tomó la positividad a cada uno de los parásitos digestivos estudiados, y el rebaño se introdujo como factor aleatorio para contrarrestar su efecto sobre el resto de factores. Todas las variables antes descritas se introdujeron en el modelo y se eliminaron de una en una en base al valor de AIC (Akaike Information Criterion) hasta que se obtuvo el mejor modelo. Posteriormente, se evaluaron todas las interacciones biológicamente plausibles. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico R (R v.3.1.1; R Development Core Team, 2014), empleando la función `glmer()` del paquete estadístico `lme4`.

## 3.1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1.3.1. Prevalencia e identificación de ooquistes de *Eimeria*

El 97,0% (IC95% 94,9-98,4) de las cabras eliminaban ooquistes de *Eimeria* spp., siendo las cifras medias de opg de 2.837,0 (D.E. 4.566,9). Estos resultados indican que este protozoo es muy prevalente y está ampliamente distribuido en las granjas de ganado caprino de Galicia, siendo estos datos similares a los hallados previamente en “Cabra Galega” (Béjar, 2011) y en cabras mantenidas en semiextensivo en diversas localidades gallegas (Cienfuegos *et al.*, 2009 a; Alonso, 2016). Además, esta elevada prevalencia coincide con la señalada en la gran mayoría de los estudios realizados en ganado caprino a nivel mundial, donde los porcentajes de infección superan el 90% (Lima, 1980; Norton, 1986; O’Callaghan, 1988; De la Fuente y Alunda, 1992; Penzhorn *et al.*, 1994; Koudela y Boková, 1998; Ruíz *et al.*, 2006; Cavalcante *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2012; Kahan y Greiner, 2013; Holm *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014; Stadaliene *et al.*, 2014; Tölü y Savaş, 2016). Teniendo en cuenta que los animales analizados en estos estudios pertenecen a diferentes grupos de edad, el elevado porcentaje de cabras que eliminan ooquistes de *Eimeria* spp se debe a que los animales, tras repetidas exposiciones al parásito, desarrollan una respuesta inmunitaria celular parcialmente protectora, que protege a los animales frente a la aparición de coccidiosis clínica, pero no consigue interrumpir el ciclo interno del parásito (Norton, 1986; Taylor y Catchpole, 1994).

Para la **identificación de las especies de *Eimeria*** nos basamos en las medidas de la longitud y anchura de los ooquistes, así como de sus correspondientes valores medios y la

desviación estándar (Tabla 3.1.4.). No obstante, debido a que estos valores varían ligeramente entre los señalados por los diferentes autores (Taylor, 2007; Eckert *et al*, 1995) y a que, según Jarvinen (2008), existen diversos factores que influyen en la variabilidad de medidas obtenidas, como son el plano de orientación de la preparación, la visibilidad de la cápsula del micrópilo, etc., consideramos de gran interés tener en cuenta el ratio longitud / anchura.

**Tabla 3.1.4. Medidas de los ooquistes esporulados de *Eimeria* spp hallados en ganado caprino**

Especies	Media (DE)	Ratio largo/ancho
<i>E. alijevi</i>	18,0 (2,8) x 16,5 (2,7)	1,1
<i>E. arloingi</i>	28,0 (3,1) x 19,3 (2,5)	1,5
<i>E. aspheronica</i>	27,0 (2,2) x 20,5 (2,1)	1,3
<i>E. caprina</i>	28,5(1,5) x 19,2 (1,7)	1,5
<i>E. christenseni</i>	38,3 (2,7) x 25,0 (2,4)	1,5
<i>E. hirci</i>	20,3(1,5) x 17,2 (2,0)	1,2
<i>E. jolchijevi</i>	30,0(3,5) x 22,5 (3,5)	1,3
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	22,8( 2,6) x 18,4 (2,4)	1,2

Se identificaron 8 especies de *Eimeria* en los rebaños de cabras de Galicia: *E. alijevi*, *E. arloingi*, *E. aspheronica*, *E. caprina*, *E. christenseni*, *E. hirci*, *E. jolchijevi* y *E. ninakohlyakimovae* (Figura 3.1.9.). Estas especies ya habían sido descritas por otros autores en ganado caprino en Europa (Hidalgo y Cordero, 1999; Taylor, 2007; Smith y Sherman, 2009).

Del total de ooquistes identificados, las especies más frecuentes fueron *E. arloingi*, *E. ninakohlyakimovae* y *E. alijevi*, siendo muy bajo el porcentaje de animales en los que se identificaron ooquistes de *E. aspheronica*, *E. christenseni*, *E. caprina*, *E. hirci* y *E. jolchijevi* (Figura 3.1.10).

*E. arloingi* y *E. ninakohlyakimovae* fueron las especies más abundantes, coincidiendo con estudios anteriores (Penzhorn *et al.*, 1994; Borgsteede y Dercksen, 1996; Jalila *et al.*, 1998; Harper y Penzhorn, 1999; Agyei *et al.*, 2004; Ruíz *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2014). Ambas presentan una notable patogenicidad, pudiendo actuar de forma sinérgica, causando importantes lesiones tanto en intestino delgado como en grueso (Koudela y Boková, 1998).



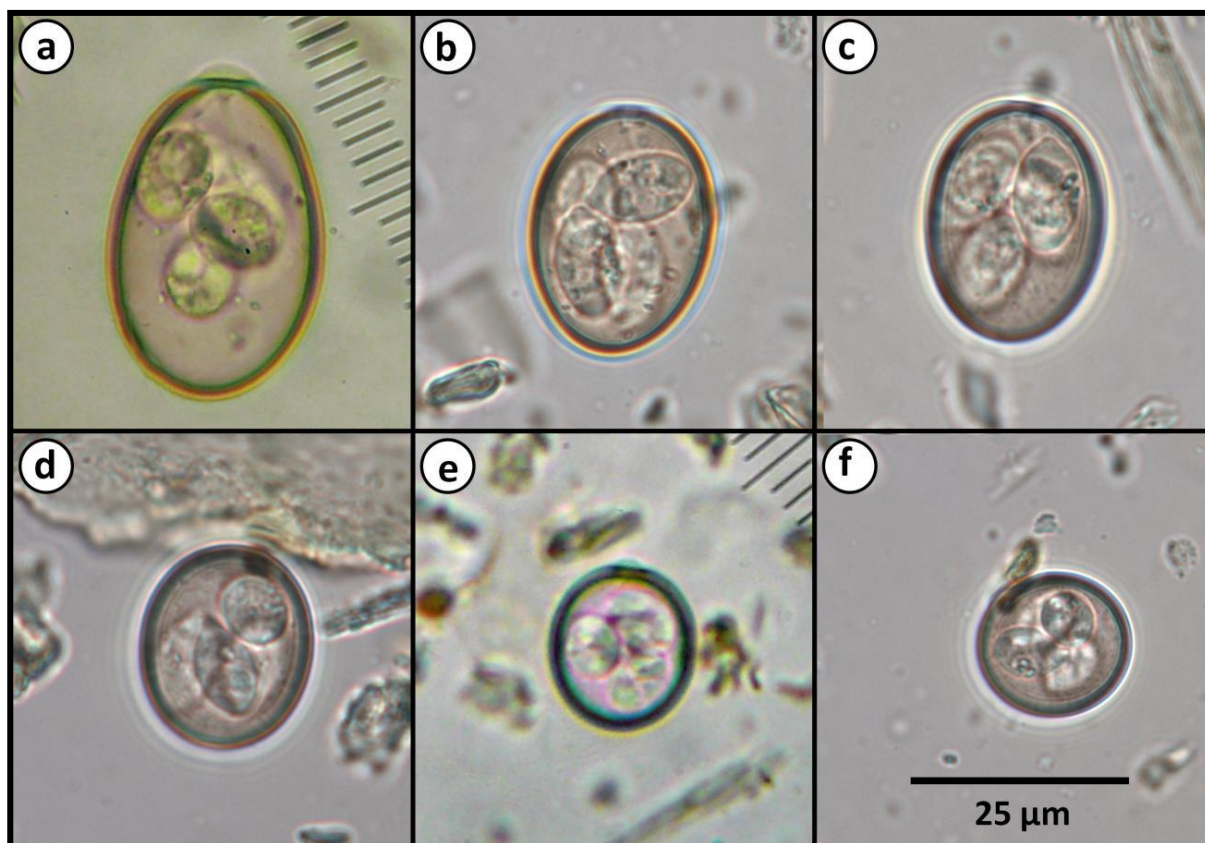


Figura 3.1.9. Especies de *Eimeria* identificadas: a) *E. christenseni*; b) *E. caprina*; c) *E. arloingi*; d) *E. ninakohlyakimovae*; e) *E. hirci*; f) *E. alijeve*

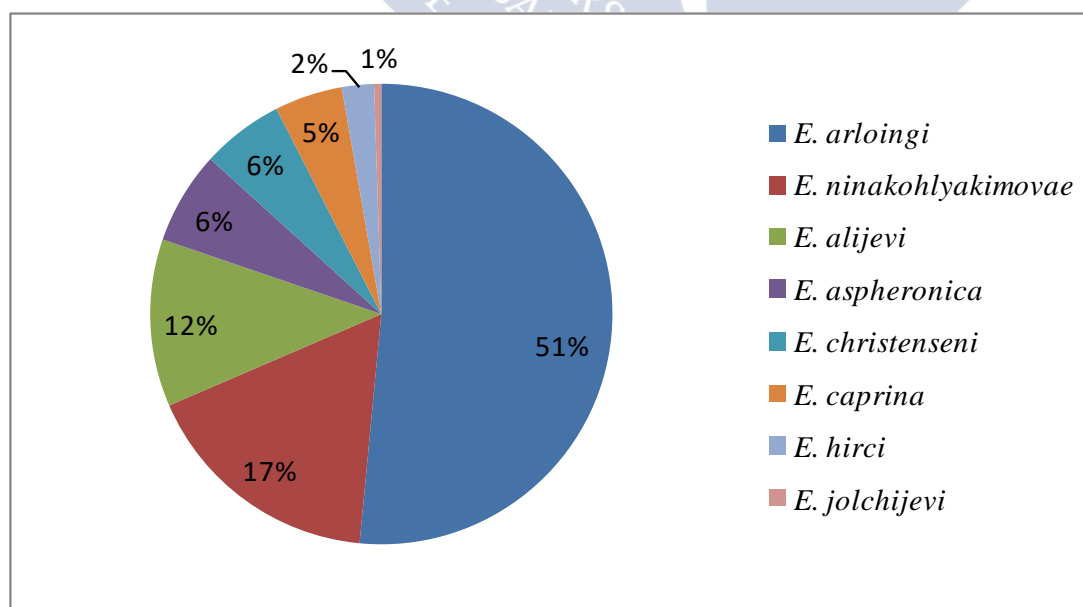


Figura 3.1.10. Prevalencia de las especies de *Eimeria* spp identificadas

Así mismo, *E. christenseni* y *E. caprina* son especies patógenas para el ganado caprino (Taylor *et al.*, 2007), pero su presencia en este estudio fue baja. No obstante, se debe tener en cuenta que, aunque las cabras no manifiesten signos clínicos, probablemente debido a su rusticidad, las infecciones por *Eimeria* van asociadas a pérdidas en la producción, en especial si están implicadas especies patógenas (Fox, 1985). Entre las pérdidas económicas, cabe destacar el menor desarrollo de los animales jóvenes, debido a una menor ganancia media diaria, mientras que en los adultos hay reducción de la producción de leche (Smith y Sherman, 2009).

En ningún rebaño se observaron infecciones por una sola especie de *Eimeria*, siendo las asociaciones más frecuentes las ocasionadas por 6, 5, 7 y 8 especies (Tabla 3.1.5.). Estos resultados concuerdan con Vercruysse (1982), Norton (1986), O'Callaghan (1989), Kusiluka *et al.* (1996), Koudela y Boková (1998) e Hidalgo y Cordero (1999), quienes señalaron que tanto en el ganado caprino como en el ovino, es frecuente que los animales estén infectados por varias especies de *Eimeria*.

Tabla 3.1.5. Porcentajes y especies que componen las parasitaciones mixtas encontradas

Asociaciones	Especies	Prevalencia
5 especies	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. ali</i> + <i>E. cap</i>	16,7%
6 especies	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. chris</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. hir</i> + <i>E. cap</i>	16,7%
	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. chris</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. hir</i> + <i>E. ali</i>	16,7%
	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. ali</i> + <i>E. cap</i> + <i>E. jol</i>	16,7%
7 especies	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. chris</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. hir</i> + <i>E. cap</i> + <i>E. ali</i>	16,7%
8 especies	<i>E. arl</i> + <i>E. nin</i> + <i>E. chris</i> + <i>E. asph</i> + <i>E. hir</i> + <i>E. cap</i> + <i>E. ali</i> + <i>E. jol</i>	16,7%

*E. arl*: *E. arloingi*; *E. nin*: *E. ninakoklyakimovae*; *E. chris*: *E. christenseni*; *E. asph*: *E. apsheronica*; *E. hir*: *E. hirci*; *E. ali*: *E. alijeji*; *E. cap*: *E. caprina*; *E. jol*: *E. jolchijevi*

### A. Análisis de factores de riesgo

Como se aprecia en la Tabla 3.1.6., debido a que el porcentaje de animales que eliminaban ooquistes del protozoo fue muy elevado y similar al considerar las diferentes variables, obviamente, no se constataron diferencias significativas al considerar la influencia de los diferentes factores de riesgo sobre la prevalencia de infección por *Eimeria*.

En relación con las **cifras medias de eliminación** de ooquistes por gramo de heces, se observaron que estas eran significativamente más elevadas en los **animales más jóvenes** ( $F=3,188$ ;  $p=0,024$ ), **en los rebaños de tamaño mediano** ( $F=7,536$ ;  $p<0,001$ ) y en aquellos



**donde no había ovejas** ( $F= 42,485$ ;  $p< 0,001$ ), así como en las cabras de la **zona costa-centro** ( $F= 36,026$ ;  $p< 0,001$ ); también se observaron recuentos superiores en áreas con temperaturas medias superiores a  $10^{\circ}\text{C}$ , aunque con ANOVA se constató que no existían diferencias significativas. Por el contrario, se observó que las cifras de excreción de ooquistes eran similares al considerar el sexo, la raza, el sistema de manejo, la utilización de antiparasitarios, el que estuvieran integrados en una ADSG, las precipitaciones y la altitud del área donde pastaban los animales.

La influencia de la **edad** de las cabras sobre la eliminación de *Eimeria* spp. ya fue descrita por numerosos autores, siendo los recuentos más elevados en los cabritos jóvenes (Hidalgo y Cordero, 1999; Abo-Shehada y Abo-Farieha, 2003; Ruíz *et al.*, 2006; Smith y Sherman, 2009). En un estudio previo realizado en “Cabra Galega” explotadas en semiextensivo, Béjar (2011) comprobó que tanto la prevalencia como las cifras medias de eliminación eran ligeramente superiores en los animales jóvenes (100%;  $\bar{x}= 2.717$ ; D.E. 4.043 opg) que en los adultos (95,8%;  $\bar{x}= 2.723$ ; D.E. 4.710 opg), aunque la ausencia de diferencias significativas pudo deberse al reducido número de animales analizados ( $n= 135$ ). Los mayores recuentos que presentan los jóvenes son consecuencia de la ausencia de una respuesta inmunitaria eficaz frente a la primoinfección, de modo que es durante el destete cuando se observa el pico máximo de eliminación de ooquistes (Jalila *et al.*, 1998). Posteriormente, y debido a que *Eimeria* es un parásito ubicuo en las granjas de rumiantes domésticos, las repetidas exposiciones al protozoo permiten que el animal desarrolle una respuesta inmunitaria celular que lo protege, parcialmente, frente a nuevas infecciones, evitando de este modo la aparición de coccidiosis clínica (De la Fuente y Alunda, 1992; Penzhorn *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2014). Debido a esta protección parcial, el ciclo interno del parásito no se interrumpe totalmente, y por ello los animales re infectados (generalmente los de mayor edad) continúan eliminando cifras bajas de ooquistes en heces, en torno a los 1.000-2.000 opg (Norton, 1986; Taylor y Catchpole, 1994; Silva *et al.*, 2014), lo que coincide con los resultados obtenidos en los animales de 13-48 meses (2.457 opg). Además, en este estudio se observó que los animales de mayor edad eliminaban un número mayor de ooquistes (3.027 opg) que los de 13-48 meses, lo que concuerda con los resultados de otras investigaciones que afirman que los animales de mayor edad (de más de 4 años) muestran un cierto debilitamiento del sistema inmunitario que se traduce en un ligero incremento en la intensidad de eliminación de ooquistes en heces (Kanyari, 1988; De la Fuente y Alunda, 1992; Charlier y

Paraud, 2012). En los rebaños de ganado caprino de Galicia, el porcentaje de eliminación suele ser reducido, por lo que la edad media de los animales del rebaño suele ser elevada; en este estudio, el 40,5% de las cabras del grupo de mayor edad (48 meses) tenían más de 7 años, y el más viejo tenía 14,3 años.

**Tabla 3.1.6. Factores de riesgo y prevalencia e intensidad de eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp.**

VARIABLES		Prevalencia (%)		Intensidad		
		%	IC 95%	N	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	100	79,95-100	20	5127	5411,0
	13-48	98,12	94,94-99,40	204	2457	3565,4
	> 48	96,51	92,80-98,50	193	3027	5317,0
Sexo	Hembra	96,73	94,34-98,17	378	2876	4689,7
	Macho	100	89,56-100	41	2476	3242,7
Raza	Cruce	95,24	90,06-97,90	132	2757	5842,4
	“Galega”	97,65	94,70-99,04	249	2925	4039,3
	De leche	100	88,57-100	28	2539	2289,7
Sistema de manejo	Intensivo	100	89,33-100	41	2546	2208,3
	Semiextensivo	96,76	94,25-98,23	350	2908	4821,6
	Extensivo	96,55	80,37-99,82	28	2382	3842,2
Tamaño de rebaño (Nº de animales)	< 96	98,13	92,75-99,68	105	2766	3441,3
	96-194	99,12	94,45-99,95	104	3598	6287,1
	> 194	95,45	91,55-97,67	210	2496	3991,6
Presencia de ovejas	No	99,14	96,60-99,85	223	3566	4218,9
	Si	94,69	90,44-97,18	196	2008	4811,0
Desparasita	No	100	89,33-100	41	2969	3995,2
	Si	96,74	94,35-98,18	378	2823	4629,2
ADSG	No	100	94,42-100	82	2439	3540,7
	Si	96,37	93,71-97,97	337	2934	4782,9
Tª media (°C)	Hasta 10	93,33	85,50-97,26	84	2033	2773,6
	Más de 10	98,00	95,74-99,12	335	3039	4897,6
Precipitación (mm)	< 800	97,48	93,28-99,19	155	2924	3961,0
	800-1000	91,96	84,88-96,03	103	2914	6689,0
	> 1000	100	97,23-100	161	2705	3291,6
Altitud (m)	Alta (>490)	95,24	91,80-97,33	260	2488	3638,6
	Baja (<490)	100	97,20-100	159	3408	5739,9
Área geográfica	Costa-Centro	99,20	96,84-99,86	241	3663	5486,9
	Montaña	94,18	89,55-96,91	178	1720	2500,0

Respecto al **tamaño del rebaño**, se comprobó que la eliminación media era superior en las explotaciones de tamaño mediano, lo que concuerda con lo señalado por diversos autores en otros rumiantes domésticos (Chibunda *et al.*, 1997; Hidalgo y Cordero, 1999; Matjila y Penzhorn, 2002; Dauschies y Najdrowski, 2005). En este sentido, las menores prevalencias y recuentos de opg se detectaron en las granjas de mayor tamaño, coincidiendo con los resultados de Ruíz *et al.* (2006) en ganado caprino de Gran Canaria. Estas grandes explotaciones, dentro de las cuales se incluyen las granjas de leche, presentan un manejo más profesionalizado que incluye la aplicación de medidas de higiene más estrictas, implementación de planes de desinfección, desinsectización y desratización (DDD), así como a la realización de vacunaciones y desparasitaciones periódicas, a veces con productos coccidicidas, lo que sin duda contribuye a una menor contaminación ambiental y presión de infección que repercute de forma notable en las probabilidades de contacto con el parásito. Además, en algunas granjas en extensivo, donde la densidad de animales en el pasto es menor, también son de gran tamaño. Un gran proporción de las explotaciones estudiadas, especialmente las de pequeño tamaño, eran de tipo tradicional, con instalaciones que dificultan la limpieza del suelo y, en consecuencia, favorecen la esporulación de los ooquistes (Jäger *et al.*, 2005; Alonso, 2016). Los mayores recuentos observados en las granjas de tamaño mediano podrían deberse a un incremento del número de animales del rebaño que no se correspondió con una ampliación y mejora de las instalaciones, lo que supuso problemas de hacinamiento, falta de aireación, aumento de humedad y de concentraciones de amoníaco y de CO<sub>2</sub>, que favorecen el estrés y la infección de los animales (Dauschies y Najdrowski, 2005); asimismo, si en la explotación hay condiciones deficientes de higiene y un mal manejo de los animales, se produce una mayor presión de infección y un aumento de los porcentajes de infección (Cornelissen *et al.*, 1995; Dauschies y Najdrowski, 2005).

En relación con la **presencia o ausencia de ovejas** en las explotaciones, aunque las cifras medias de eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp., resultaron superiores en las granjas en las que no había ovejas, hay que considerar que cada hospedador tiene sus propias especies y que, como han señalado diversos autores (Norton 1986; Hidalgo y Cordero, 1999) no existen infecciones cruzadas entre la mayoría de las especies de *Eimeria* que infectan al ganado ovino y al caprino. En este sentido, en rebaños de ovejas, López *et al.* (2013) comprobaron que la presencia de cabras se traducía en un incremento significativo del riesgo de infección por *Eimeria* y de otros helmintos para las ovejas, sugiriendo que el ganado caprino “facilitaría” la

infección de los ovinos, aunque se necesitan estudios más amplios para conocer con mayor profundidad la interacción entre estos dos pequeños rumiantes en la epidemiología de este protozoo.

La mayor intensidad de eliminación en la **zona costa-centro** coincide con lo observado previamente por Béjar (2011) en cabras de raza galega, ya que observó que las condiciones climáticas de la zona no influían sobre la prevalencia de infección por *Eimeria*; sin embargo, la intensidad de eliminación era significativamente superior en las cabras que pastaban en la zona centro (4.307 opg; DE 5.307) que las que lo hacían en la montaña (1.567 opg; DE 1.838), probablemente debido a que en la mayoría de las localidades que se corresponden con la zona geográfica costa-centro, las condiciones de temperatura y de humedad son más adecuadas para la esporulación de los ooquistes de *Eimeria* que las registradas en la zona de montaña, lo que concuerda con lo señalado por diversos autores (Kasim y Al-Shawa, 1984; Ramajo *et al.*, 1995; Alunda *et al.*, 1996; Hidalgo y Cordero, 1999; Waruiru *et al.*, 2000; Matjila y Penzhorn, 2002; Díez-Baños *et al.*, 2003; Dauschies y Najdrowski, 2005).

### 3.1.3.2. Prevalencia y eliminación de huevos de cestodos

El 15,47% (IC 95% 12,27-19,31) de las cabras eliminaban huevos de *Moniezia*, siendo las cifras medias de hpg de 285 (D.E. 568,6). Estos resultados fueron similares a los hallados en cabras de raza galega por Béjar (2011). Por el contrario, tanto la prevalencia como las cifras medias de eliminación de huevos de este cestodo fueron netamente superiores a las halladas en ganado ovino y caprino de Galicia por diversos autores (Pedreira *et al.*, 2003; Cienfuegos *et al.*, 2009; Dacal *et al.*, 2009) puesto que en su caso el porcentaje de infección siempre fue inferior al 5%. Así mismo, el porcentaje de infección por *Moniezia* en este estudio fue netamente superior al señalado por otros autores en ganado ovino en otras localidades españolas (Ferre *et al.*, 1991; Hidalgo *et al.*, 1995; Díez-Baños *et al.*, 2006).

### A. Factores de riesgo

Como se comprueba en la Tabla 3.1.7., el porcentaje de animales que eliminaban huevos de *Moniezia* era superior en los animales adultos, en las hembras, en los de raza galega y en los de aptitud láctea, en los rebaños más pequeños, en los que no había ovejas, en las explotaciones en las que no se desparasitaba, en las que no estaban en ADS y en las áreas en

las que se registraban mayores temperaturas y precipitaciones. No obstante, con análisis de regresión logística mixta, se constataron diferencias significativas en la **prevalencia de infección** por *Moniezia* al considerar la **raza** y para las **precipitaciones**. En este sentido, los animales de “Raza Galega” ( $Z= 3,470$ ;  $p< 0,001$ ) y los de aptitud lechera ( $Z= 3,040$ ;  $p= 0,002$ ) presentaban una prevalencia estadísticamente más elevada que los de cruce (Tabla X). Los *odds ratio* eran de 4,0 (IC 95% 1,827-8,743) para los de “Raza Galega” frente a los de cruce y de 4,9 (IC 95% 1,758-13,613) para los de aptitud lechera frente a los de cruce. Asimismo, la diferente precipitación en las áreas donde se localizaban las granjas influyó sobre la prevalencia de *Moniezia*, ya que las cabras que se explotaban en áreas de mayor precipitación presentaban una prevalencia significativamente superior ( $Z= -1,966$ ;  $p= 0,049$ ;) y un OR de 0,443 (IC95% 0,196-0,998) que los animales que pastaban en las áreas con precipitaciones menores o intermedias (Tabla 3.1.7.).

En cabras de raza galega, Béjar (2011) halló diferencias respecto a la zona en la que pastaba las cabras, siendo superior en las que lo hacían en el centro que en las de la montaña; mientras que no las observó al considerar el sexo y la edad.

Respecto a las **cifras medias de eliminación de hpg**, con análisis de varianza multifactorial, sólo se constataron diferencias significativas respecto a la **zona geográfica** ( $F= 5,848$ ;  $p= 0,019$ ). No obstante, como se observa en la Tabla 3.1.7., la eliminación de huevos de *Moniezia* spp. fue superior en los adultos, en las hembras, en los procedentes de cruces, en los mantenidos en semiextensivo, en los rebaños más grandes, en los que había ovejas, en las explotaciones que estaban en ADS, en las áreas en las que la altitud era menor y se registraban mayores temperaturas y en las cabras mantenidas en la zona costa-centro (Tabla 3.1.7.).

La influencia de la zona respecto a la eliminación de huevos de *Moniezia* spp., ya había sido observada por nosotros (Béjar, 2011) en un estudio realizado en cabras de raza galega en el que comprobamos que las que se mantenían en la zona centro eliminaban cifras más elevadas de hpg (239; D.E. 87) que las de la montaña (205; D.E. 338), y que estas diferencias eran significativas ( $F= 5,167$ ;  $p= 0,034$ ). Estas diferencias, probablemente, se deben a que al intervenir los ácaros oribátidos como hospedadores intermediarios, estos serían más abundantes en la zona centro, en la que las condiciones de temperatura y humedad son más adecuadas para el hospedador que en la montaña.

Tabla 3.1.7. Factores de riesgo y prevalencia e intensidad de eliminación de huevos de *Moniezia* spp.

VARIABLES		Prevalencia (%)		Intensidad		
		%	IC 95%	N	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	5,00	2,62-26,94	1	155	-
	13-48	16,67	12,03-22,56	27	307	769,0
	> 48	15,42	10,87-21,34	28	268	296,3
Sexo	Hembra	15,82	12,42-19,90	51	302	593,5
	Macho	12,20	4,58-27,00	5	110	43,3
Raza	Cruce	5,71	2,68-11,32	7	643	1524,6
	“Galega”	19,22	14,68-24,71	43	242	251,4
	De leche	26,32	13,98-43,39	6	175	163,4
Sistema de manejo	Intensivo	24,39	12,91-40,64	6	175	163,6
	Semiextensivo	14,60	11,22-18,75	46	312	622,7
	Extensivo	13,79	4,51-32,57	4	137	47,9
Tamaño de rebaño (Nº de animales)	< 96	18,69	12,05-27,63	17	279	263,3
	96-194	15,09	9,14-23,66	13	162	130,8
	> 194	14,09	9,91-19,56	26	350	804,0
Presencia de ovejas	No	18,58	13,86-24,41	36	252	264,0
	Si	12,08	8,12-17,49	20	344	895,6
Desparasita	No	21,95	11,11-38,03	8	292	377,8
	Si	14,80	11,51-18,79	48	284	597,6
ADSG	No	20,73	12,87-31,39	16	203	277,7
	Si	14,25	10,85-18,44	40	318	650,0
Tª media (°C)	Hasta 10°C	14,44	8,21-23,80	11	150	154,8
	Más de 10°C	15,74	12,12-20,13	45	318	627,0
Precipitación (mm)	< 800	17,61	12,21-24,62	24	364	807,6
	800-1000	8,04	3,97-15,12	9	169	180,5
	> 1000	18,52	13,03-25,54	23	248	317,6
Altitud (m)	Alta (>490)	16,48	12,39-21,54	39	214	214,9
	Baja (<490)	13,75	9,00-20,29	17	447	980,7
Área geográfica	Costa-Centro	15,16	11,03-20,43	31	380	725,4
	Montaña	15,87	11,12-22,05	25	167	238,9

En relación con la mayor eliminación de huevos de *Moniezia* spp. en los animales adultos y en las hembras, estos resultados coinciden en general con los obtenidos en cabras de raza galega (Béjar, 2011), puesto que aunque tampoco obtuvimos diferencias significativas, hallamos cifras medias de eliminación en las hembras ( $\bar{x}$ = 228; D.E. 246) que en los machos (10%;  $\bar{x}$ = 97) y en los animales adultos (313; D.E. 413) que en los jóvenes (199; D.E. 118).



### 3.1.3.3. Prevalencia y eliminación de huevos de trematodos

El porcentaje de cabras en las que se halló huevos de trematodos hepáticos y ruminales, así como las cifras medias de eliminación fueron muy bajas. Como el número de animales positivos fue en todos los casos tan escaso, no fue posible analizar estadísticamente la interacción con los factores de riesgo.

Únicamente 5 cabras de las 381 muestreadas eliminaron huevos de *Fasciola hepatica*, siendo la prevalencia de infección del 1,31% (IC95% 0,48-3,21). Así mismo, las cifras medias de eliminación, de huevos por gramo de heces, fueron bajas ( $\bar{x}$ = 9; D.E. 6,7). Estos resultados coinciden con los de Afshan *et al.* (2013), quienes señalaron que, en general, la prevalencia de infección es significativamente superior en las ovejas (28,43%) que en las cabras (5,01%). Estas diferencias, según estos autores, se pueden atribuir a los diferentes comportamientos de las ovejas y cabras a la hora de pastar, ya que las ovejas pastan cerca de zonas húmedas, mientras que las cabras tienen tendencia al ramoneo en zonas más secas. En este sentido, Gorski *et al.* (2007) señalaron prevalencias de infección del 10,9% en ganado ovino y, por el contrario, no detectaron cabras que eliminasen huevos de *F. hepatica*.

Así mismo, en un estudio previo realizado en cabras de raza galega (Béjar, 2011) no observamos huevos de este trematodo hepático; en un trabajo posterior, en cabras mantenidas en semiextensivo en Galicia, Alonso (2016) constató que únicamente el 1,9% de los animales eliminaban un escaso número de huevos de *F. hepatica* ( $\bar{x}$ = 33,3; D.E. 26,02). Por el contrario, mediante un ELISA de captura, Pérez-Creo *et al.* (2016 a, b) observaron seroprevalencias a *F. hepatica* similares entre ovejas y cabras manejadas en semiextensivo. Estas diferencias pueden deberse a la menor sensibilidad (30-70%) de la coprología en relación con el ELISA (Charlier *et al.*, 2008), puesto que no permiten detectar animales infectados en fase de prepatencia; además, la coprología no resulta adecuada para detectar animales con reducidos niveles de infección, debido a que, a veces, la cantidad de huevos en las heces no alcanza el límite de detección de la técnica. En consecuencia, puede suceder que un porcentaje de animales infectados se identifiquen como falsos negativos mediante coprología.

La prevalencia de **anfistomas** fue baja (0,79%; IC95% 0,20-2,48), puesto que solo 3 de las 381 cabras muestreadas eliminaron huevos de estos trematodos ruminales, aunque las cifras medias fueron ( $\bar{x}$ = 63; D.E. 91,3) fueron ligeramente superiores a las observadas para *F.*



*hepatica*. Debemos señalar, que es la primera vez que se han observado huevos de anfitomas en ganado caprino en Galicia, puesto que, en estudios previos no se habían hallado (Béjar, 2011; Alonso, 2016). Así mismo, en ganado ovino en pastoreo en Galicia, tanto la prevalencia (1,1%) como las cifras medias de eliminación (68) fueron bajas (Vázquez *et al.*, 2008; Cienfuegos *et al.*, 2009).

En relación con *Dicrocoelium dendriticum* solo 1 cabra de las 381 muestreadas (0,26%; IC95% 0,01-1,69) eliminó 7 huevos por gramo de heces de este trematodo. En estudios previos realizados en ganado caprino en Galicia, no se había hallado eliminación de huevos de este trematodo. Así mismo, en ovinos en Galicia, se había observado que tanto la prevalencia (0,7%) como las cifras medias (76 hpg) eran bajas (Vázquez *et al.*, 2008; Cienfuegos *et al.*, 2009). No obstante, hay que considerar que, según diversos autores (Manga y Quiroz, 1999; Otranto y Traversa, 2002; Rojo-Vázquez *et al.*, 2003) en el ciclo biológico de *D. dendriticum* intervienen especies de moluscos xerófilos y hormigas, por lo que este trematodo es más prevalente en rumiantes que pastorean en zonas en las que las precipitaciones son más escasas y las temperaturas más elevadas que las que se registran en Galicia.

#### **3.1.3.4. Prevalencia de infección por huevos de nematodos gastrointestinales**

Como se ha señalado en Materiales y Métodos, basándonos en las características morfométricas de los huevos, se identificó *Trichuris*, *Nematodirus* y estrongídeos, no hallándose *Capillaria*.

##### **3.1.3.4.1. *Trichuris***

El 10,39% (IC95% 7,76-13,75) de los animales eliminaban cifras medias de huevos por gramo de heces que se pueden considerar como bajas (122 hpg; DE 109,8). Estos resultados son similares a los hallados (13-14,8%) en cabras mantenidas en distintas localidades gallegas por Béjar (2011) y Vázquez-Rodríguez (2016), y en ganado caprino del norte de Italia (10,4-12,12%; Di Cerbo *et al.*, 2010; Manfredi *et al.*, 2010). Así mismo concuerdan, en general, con los observados en ganado ovino (8,7-11,7%; 2,6-79,1 hpg) en otras provincias españolas por Hidalgo *et al.* (1995), Domínguez-Toraño *et al.* (2000) y Díez-Baños *et al.* (2006, 2009 b).

Todo ello nos indica que un porcentaje importante de los pequeños rumiantes de Europa presentan infecciones por este nematodo, aunque éstas son de baja intensidad.

Respecto a los **factores de riesgo** que pueden influir sobre la prevalencia y las cifras medias de eliminación de huevos de *Trichuris* (Tabla 3.1.8.), la regresión logística mixta permitió constatar que el riesgo de infección era 3 veces superior (OR= 3,086; IC95% 1,231-7,734) en los machos que en las hembras. En este sentido, en cabras explotadas en Galicia, Béjar (2011) y Vázquez-Rodríguez (2016) también hallaron mayor prevalencia de infección en los machos, aunque estas diferencias no fueron significativas, lo que puede deberse al bajo número de muestras analizadas en estos estudios. Así mismo, la **raza** también se identificó como un factor significativamente asociado con los porcentajes de infección ( $p < 0,009$ ), puesto que las cabras de aptitud láctea y las de raza gallega mostraron una probabilidad de ser positivas 18,1 (OR= 18,088; IC95% 2,056-159,152) y 11,9 (OR= 11,904; IC95% 2,491-56,895) veces superior que en los cruces. Además también se observó mayor prevalencia en los rebaños que se mantenían en intensivo, en los de menor tamaño y en las explotaciones en las que no se desparasitaba (Tabla 3.1.8.), aunque estas diferencias no fueron significativas, todo ello parece indicar que en estas explotaciones la presión de infección es más elevada, lo que propicia mayores prevalencias de *Trichuris*, ya que su presencia se asocia a condiciones higiénicas deficientes (Cordero e Hidalgo, 1999).

Respecto a la edad, no se observaron diferencias significativas, lo que coincide con lo hallado en estudios previos realizados en cabras en Galicia (Béjar, 2011; Vázquez-Rodríguez, 2016). Aunque tampoco se observaron diferencias estadísticas respecto a las condiciones climáticas ni a la zona de procedencia de las cabras, la prevalencia fue superior en las que pastaban en la zona Costa-Centro, que es donde se registran mayores temperaturas y menores precipitaciones, siendo similar a lo observado por Béjar (2011).

Respecto a los **valores de eliminación de huevos de *Trichuris***, debido a que solo se realizaron recuentos de huevos en 14 animales, no se pudieron hacer los correspondientes análisis estadísticos.

**Tabla 3.1.8. Factores de riesgo y prevalencia y cifras medias de eliminación de huevos de *Trichuris***

VARIABLES		Prevalencia (%)		Eliminación		
		%	IC 95%	N	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	20,00	6,61-44,27	1	50	-
	13-48	9,57	6,09-14,60	4	135	144,0
	> 48	10,40	6,70-15,65	9	124	105,2
Sexo	Hembra	8,95	6,40-12,34	12	109	94,1
	Macho	23,81	12,59-39,80	2	200	212,1
Raza	Cruce	2,13	0,55-6,57	-	-	-
	“Galega”	13,73	9,87-18,71	13	128	112,2
	De leche	18,92	8,56-35,71	1	50	-
Sistema de manejo	Intensivo	17,50	7,89-33,36	1	50	-
	Semiextensivo	9,89	7,11-13,54	11	101	94,1
	Extensivo	6,90	1,20-24,21	2	275	106,1
Tamaño de rebaño. (Nº animales)	< 96	16,82	10,54-25,55	9	126	104,1
	96-194	7,48	3,52-14,64	-	-	-
	> 194	8,68	5,44-13,42	5	114	131,9
Presencia de ovejas	Si	6,76	3,89-11,32	7	143	112,3
	No	13,72	9,65-19,06	7	101	111,6
Desparasita	No	17,07	7,70-32,65	1	50	-
	Si	9,69	7,03-13,17	13	128	112,2
ADSG	No	15,85	9,04-25,95	6	106	74,3
	Si	9,12	6,41-12,75	8	134	134,4
Tª media (°C)	Hasta 10	6,67	1,74-14,50	1	350	-
	Más de 10	11,37	8,30-15,33	13	104	91,6
Precipitación (mm)	< 800	16,46	11,22-23,37	8	130	110,4
	800-1000	7,14	3,36-14,02	3	173	154,3
	> 1000	6,75	3,59-12,05	3	50	0,0
Altitud (m)	Alta (>490)	10,26	7,04-14,63	9	156	124,9
	Baja (<490)	10,62	6,49-16,72	5	60	22,4
Área geográfica	Costa-Centro	11,07	7,55-15,85	6	51	1,6
	Montaña	9,52	5,90-14,86	8	176	121,4

No obstante, se hallaron mayores valores de eliminación en los adultos, en los machos, en las cabras de raza galega, en las explotaciones en las que había ovejas, en las que desparasitaban y estaban incluidas en ADS; así como en las localidades en las que se registraron temperaturas superiores a 10°C, precipitaciones moderadas y elevada altitud (Tabla 3.1.8.), que, en general coinciden con las área de montaña. Estos resultados coinciden,

en parte, con los observados en estudios previos realizados en cabras de Galicia por Béjar (2011) y Vázquez-Rodríguez (2016).

#### 3.1.3.4.2. *Nematodirus*

En las heces del 14,15% (IC95% 11,10-17,86) de las cabras se observaron huevos de este nematodo, comprobando que los valores medios de huevos por gramo de heces eran bajos (64 hpg; DE 30,1). Estos resultados concuerdan con los hallados en ovinos en pastoreo (8,5-13,6%) en distintas localidades gallegas (Freiría, 2003; Cienfuegos *et al.*, 2009); asimismo, son inferiores a los hallados previamente en cabras de raza Galega, donde el porcentaje de positivos alcanzó el 25,2% (Béjar, 2011). Estos datos sugieren que las infecciones por *Nematodirus* spp son relativamente comunes en pequeños rumiantes de Galicia, aunque la intensidad de eliminación de huevos es reducida. De todos modos, se ha demostrado que las hembras de *Nematodirus* spp son poco prolíficas (McKenna, 1981), lo que sin duda conduciría a una subestimación de la prevalencia real.

En la Tabla 3.1.9., se refleja la prevalencia y las cifras medias de hpg de *Nematodirus* al tener en cuenta las diferentes variables consideradas. En relación a las variables que podían influir en la prevalencia y cifras de eliminación de huevos de *Nematodirus* spp, se observó que uno de los factores que repercutía significativamente en los **porcentajes de infección** era el **área geográfica**; así, los animales de la montaña mostraron una probabilidad de ser positivos al nematodo 10,6 (IC95% 1,738-65,017) veces más elevada que los de la costa-centro, lo que coincide con resultados previos en caprino gallego (Béjar, 2011). Además, Kates (1950) y Di Cerbo *et al.* (2010) señalaron que este parásito presenta una mayor adaptación a las bajas temperaturas que otros géneros de nematodos gastrointestinales, de modo que sus larvas pueden sobrevivir la época invernal dentro del huevo, lo que explicaría la correlación positiva encontrada por Manfredi *et al.* (2010) en cabras de Lombardía (Italia), entre la prevalencia de infección por *Nematodirus* y la altitud a la que se encontraban los animales, puesto que las zonas de montaña se caracterizaban por presentar menores temperaturas y mayores precipitaciones.

Tabla 3.1.9. Prevalencia y cifras medias de eliminación de *Nematodirus* según los factores de riesgo.

VARIABLES		Prevalencia (%)		Intensidad		
		%	IC 95%	N	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	0,00	0,00-20,04	-	-	-
	13-48	16,90	12,26-22,77	12	67	32,9
	> 48	12,81	8,69-18,38	11	60	28,0
Sexo	Hembra	13,64	10,49-17,50	21	65	31,3
	Macho	19,05	9,14-34,63	2	5	0
Raza	Cruce	9,59	5,54-15,86	2	29	29,0
	"Galega"	18,82	14,33-24,28	21	67	28,8
	De leche	0,00	0,00-11,71	-	-	-
Sistema manejo	de Intensivo	0,00	0,00-10,91	-	-	-
	Semiextensivo	15,99	12,48-20,22	23	64	30,1
	Extensivo	10,34	2,71-28,50	-	-	-
Tamaño rebaño. (N° animales)	de < 96	6,54	2,90-13,48	4	62	25,0
	96-194	23,21	15-98-32,32	4	53	38,5
	> 194	13,24	9,19-19,63	15	67	30,5
Presencia de ovejás	Si	13,04	8,92-18,58	8	51	25,3
	No	15,15	10,91-20,58	15	70	31,3
Desparasita	No	7,32	1,91-21,00	1	52	-
	Si	14,86	11,59-18,83	22	64	30,7
ADSG	No	17,07	9,98-27,33	6	59	20,3
	Si	13,48	10,20-17,58	17	65	33,3
Tª media	Hasta 10°C	15,56	9,07-25,06	3	36	23,7
	Más de 10°C	13,79	10,44-17,97	20	68	29,3
Precipitación (mm)	< 800	13,29	8,60-19,82	6	67	26,9
	800-1000	12,50	7,25-20,41	11	65	37,5
	> 1000	16,07	11,03-22,70	6	59	20,3
Altitud (m)	Alta (>490)	16,85	12,71-21,94	20	63	31,0
	Baja (<490)	9,70	5,82-15,53	3	67	28,9
Área geográfica	Costa-Centro	9,24	6,07-13,71	6	66	26,1
	Montaña	20,63	15,25-27,25	17	63	32,1

También se apreció que los **animales desparasitados** y los que **no están en ADS** mostraban un riesgo de infección 36,4 (IC95% 1,213-1090,091) y 11,0 (IC95% 1,025-111,111) veces superior. Por lo general, las explotaciones que se encuentran en ADSG tienen un manejo más profesionalizado, incluyendo la aplicación de medidas de control de enfermedades infecciosas y parasitarias (vacunaciones y desparasitaciones periódicas) y un

plan DDD, lo que sin duda debe repercutir en una menor contaminación del medio y de los porcentajes de infección. Por otro lado, las mayores prevalencias observadas en las granjas que desparasitan pueden deberse a la presencia de cepas de *Nematodirus* spp resistentes a antihelmínticos. En este sentido Sievers y Alocilla (2007) comprobaron que los nematodos del género *Nematodirus* mostraron elevados porcentajes de resistencia antihelmíntica frente a la ivermectina, seguido por *Cooperia* y *Trichostrongylus*, lo que concuerda con Moenen-Lozoz (1998) y Sievers y Fuentealba (2003); así, las desparasitaciones sucesivas con el mismo antiparasitario pueden incrementar el problema, que se puede magnificar al tener en cuenta que *Nematodirus* es muy resistente al frío y la sequedad, de modo que pueden sobrevivir en los pastos más de 10 meses, pudiendo hibernar, garantizando la reinfección del ganado en la primavera siguiente.

Por último, el riesgo de infección por *Nematodirus* spp fue mayor (OR= 7,6; IC95% 1,425-40,412) en los **animales positivos a otras especies de nematodos gastrointestinales**, puesto que éstos presentan un amplio rango de mecanismos inmuno-reguladores que pueden modificar y disminuir la respuesta inmune defensiva del hospedador (Else, 2005), lo que podría favorecer como efecto secundario el desarrollo de otros agentes infecciosos o parasitarios.

Debido a que el número de animales que eliminaron huevos de *Nematodirus* fue muy limitado, no se realizaron los correspondientes análisis estadísticos sobre los recuentos, puesto que carecerían de la fiabilidad suficiente.

#### 3.1.3.4.3. Estrongílicos

El 83,59% (IC= 79,75-86,85%) de las cabras eliminaron huevos de estrongílicos, con cifras medias de eliminación de huevos por gramo de heces que pueden considerarse como moderadas (529 hpg; DE 1097,9). Estos resultados coinciden con los hallados por Béjar (2011) en cabras de raza autóctona galega (86,7%;  $\bar{X}$ = 432 hpg, DE 552), pero resultaron superiores a los obtenidas por Vázquez-Rodríguez (2016) en cabras mantenidas en intensivo en la provincia de Lugo (46%;  $\bar{X}$ = 170, DE 426,6 hpg). Estos resultados, junto con los obtenidos por otros investigadores en pequeños rumiantes en España, donde las prevalencias superaban el 80% (Uriarte *et al.*, 1979, 1985; Cordero *et al.*, 1985; Martínez-Gómez, 1985; Tarazona *et al.*, 1985; García y Juste, 1987; Díez-Baños *et al.*, 1991 a, b, 2006, 2009 b; Miró *et al.*, 1993; Meana y Rojo, 1999; Valcárcel *et al.*, 1999; Domínguez-Toraño *et al.*, 2000;



Álvarez-Sánchez *et al.*, 2001; Pedreira *et al.*, 2001a, 2003; Álvarez-Feijóo, 2003; Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Cienfuegos *et al.*, 2009; Paineira, 2012), nos indican que los nematodos gastrointestinales son uno de los parásitos más frecuentes y distribuidos en ganado ovino y caprino de nuestro País. De todos modos, la presencia de huevos de estrongídeos en heces no permite identificar los géneros presentes, ni por tanto, estimar la patogenicidad. Con objeto de conocer que otros géneros de nematodos infectaban a las cabras, se seleccionaron una serie de explotaciones en las que estas eliminaban mayor número de huevos. Tras realizar los correspondientes coprocultivos se comprobó que el género más prevalente era *Trichostrongylus* (74,5%) y en menor proporción se hallaron *Teladorsagia* (24%) y *Haemonchus* (1,5%). Con el análisis estadístico de las proporciones observadas de cada uno de los géneros se comprobó que existían diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre la proporción de *Trichostrongylus* y la de los otros dos géneros identificados y la de *Teladorsagia* sobre *Haemonchus*. Estos resultados concuerdan con los hallados en un estudio previo realizado por Vázquez-Rodríguez (2016) en cabras mantenidas en pastoreo intensivo en la provincia de Lugo. Así mismo, nuestros resultados son similares a los obtenidos en trabajos previos realizados en ganado ovino en la provincia de Lugo, en los que diversos autores (Álvarez-Feijóo, 2003; Freiría, 2003; Pedreira, 2006) comprobaron que *Trichostrongylus* estaba presente en el 100%, 74,4% y 72,7% de los rebaños, respectivamente. Por el contrario, la prevalencia de *Teladorsagia* observada en este estudio, fue netamente inferior a la señalada (50-83%) por los autores antes mencionados. No obstante, aunque Álvarez-Feijóo (2003), Freiría (2003) y Pedreira (2006) detectaron prevalencias de *Haemonchus* superiores a las halladas por nosotros, sin embargo, este nematodo fue el menos prevalente (3,3-27,27%) en los ovinos. Esto puede deberse a que este género necesita temperaturas muy elevadas, por encima de los 18°C (Dinaburg, 1944), que sólo se alcanzan durante un corto periodo de tiempo en nuestra Comunidad Autónoma.

En este estudio no se identificaron larvas de *Chabertia*, *Oesophagostomum* y *Cooperia* que, sin embargo, si se habían identificado en ganado ovino en pastoreo en la provincia de Lugo, aunque su prevalencia siempre fue inferior al 20% (Freiría, 2003; Pedreira, 2006; Paineira 2007). De hecho, en ovinos procedentes de diferentes localidades gallegas, Díaz *et al.* (2009) señalaron prevalencias del 10% para *Oesophagostomum* y del 8 % para *Cooperia*.

En las granjas en las que se realizaron los coprocultivos, se comprobó que las asociaciones más frecuentes eran las integradas por *Trichostrongylus* y *Teladorsagia* o por



estos y *Haemonchus*, lo que coincide con lo observado, en ovinos de la provincia de Toledo por Valcárcel (1993) quien señaló que las infecciones más frecuentes eran las dobles y las triples, siendo poco frecuentes las monoespecíficas.

Respecto a la posible influencia de los **factores de riesgo sobre la prevalencia**, como se aprecia en la Tabla 3.1.10., el porcentaje de animales que eliminaron huevos de estos nematodos fue muy elevado, por lo que la regresión logística mixta no permitió asociar significativamente ninguna de las variables estudiadas con la prevalencia. Sin embargo se constató que las cabras que eliminaban larvas de protostrongílidos presentaban prevalencias superiores de infección por estos nematodos gastrointestinales ( $Z= 2,549$ ;  $p= 0,011$ ), siendo el riesgo de infección 4,4 veces superior (IC95% 1,407-13,685) que en los animales que no estaban infectados por nematodos broncopulmonares. Consideramos que este efecto se debe, más bien, a la influencia de ciertas especies de nematodos gastrointestinales, como *Teladorsagia*, sobre el sistema inmunitario del hospedador, disminuyendo la intensidad de su respuesta, lo que favorecería el desarrollo de otros parásitos (Else, 2005), como los protostrongílidos. Este efecto se comentará de forma más detallada en el Estudio II.

En relación con las **cifras de eliminación**, como se aprecia en la Tabla 3.1.10., al considerar la posible influencia de diferentes factores se observó que las cifras medias de eliminación de huevos por gramo de heces de strongílidos eran superiores en las cabras más viejas, en las hembras, en los animales procedentes de cruces de razas, en los rebaños en extensivo, en las granjas de menor tamaño, en las explotaciones en las que no desparasitaban y en las que no estaban incluidas en las ADS, así como en los rebaños que pastoreaban en áreas con precipitaciones más elevadas y menor altitud que, en general, se corresponde con la zona geográfica de la costa-centro. No obstante, mediante ANOVA multifactorial se constató que únicamente existían diferencias significativas respecto a las cifras de eliminación al considerar el **tipo de manejo** ( $F= 16,136$ ;  $p< 0,001$ ), la **inclusión o no en una ADSG** ( $F= 11,355$ ;  $p< 0,001$ ), la **altitud** ( $F= 3,915$ ;  $p= 0,049$ ) y la **zona geográfica** ( $F= 12,046$ ;  $p< 0,001$ ).

Respecto a la **altitud y la zona geográfica donde pastaban los animales**, se constataron eliminaciones de huevos de strongílidos significativamente más elevadas en las cabras que pastaban en áreas de menor altitud y de la zona costa-centro, donde las

temperaturas medias son más cálidas y los pastos se encharcan con mucha más facilidad que en zonas elevadas de montaña.

**Tabla 3.1.10. Prevalencia y cifras medias de eliminación de estrongídeos al considerar los factores de riesgo considerados.**

VARIABLES		Prevalencia (%)		Eliminación		
		%	IC 95%	N	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	75,00	50,59-90,41	15	493	479,3
	13-48	82,57	76,73-87,23	141	515	1154,8
	> 48	85,37	79,61-89,76	162	547	1097,6
Sexo	Hembra	83,58	79,51-86,99	291	541	1128,7
	Macho	83,72	68,70-92,67	29	416	723,6
Raza	Cruce	83,01	75,90-88,41	107	711	1706,0
	“Galega”	86,27	81,29-90,13	196	434	565,7
	De leche	67,57	50,10-81,44	17	494	717,6
Sistema de manejo	Intensivo	72,09	56,10-84,17	17	494	717,6
	Semiextensivo	83,91	79,70-87,41	174	487	914,3
	Extensivo	96,55	80,37-99,82	29	957	2253,8
Tamaño de rebaño. (Nº de animales)	< 96	82,41	73,63-88,81	73	765	1559,0
	96-194	86,09	78,09-91,59	78	616	1424,6
	> 194	82,88	77,13-87,46	169	388	518,8
Presencia de ovejas	Si	80,68	74,50-85,69	152	482	1094,7
	No	86,13	80,93-90,13	168	573	1102,2
Desparasita	No	85,37	70,14-93,91	32	760	937,3
	Si	83,42	79,34-86,84	288	504	1113,0
ADSG	No	82,93	72,67-90,02	66	604	764,7
	Si	83,75	79,45-87,31	254	510	1169,5
Tª media (°C)	Hasta 10	82,42	72,72-89,31	68	550	1525,6
	Más de 10	83,90	79,56-87,49	252	524	954,2
Precipitación (mm)	< 800	85,71	79,13-90,54	118	427	444,3
	800-1000	96,70	79,76-92,81	93	374	482,7
	> 1000	78,95	71,92-84,64	109	774	1747,9
Altitud (m)	Alta (>490)	85,04	80,13-88,93	218	515	1214,0
	Baja (<490)	81,29	74,46-86,67	102	562	799,4
Área geográfica	Costa-Centro	93,92	78,70-88,09	180	618	1092,2
	Montaña	83,16	76,90-88,04	140	417	1098,7

Estos resultados concuerdan con los observados en cabras de raza galega por Béjar (2011), en las que se comprobó que tanto la prevalencia como las cifras medias de

eliminación eran significativamente superiores en los animales mantenidos en la zona centro (93,3%;  $\bar{X}$ = 487; DE 478) que en los de montaña (88,9%;  $\bar{X}$ = 398, DE 594). En este sentido, diversos autores ya habían señalado que las cifras de eliminación de los nematodos gastrointestinales varían en función del área geográfica de la que procedan los animales, puesto que el desarrollo y supervivencia de las fases libres de estos parásitos está influido por diversos factores ambientales, fundamentalmente de la humedad y de la temperatura, que pueden acelerar, retrasar o incluso inhibir esta evolución (Hayashi *et al.*, 1991; Miró *et al.*, 1991; Meana y Rojo, 1999), lo que se traduce en diferencias importantes en los niveles de contaminación de los pastos y por tanto de la prevalencia de infección e intensidad de eliminación de huevos (Couvillion *et al.*, 1996; Waruiru *et al.*, 2000, 2001; Keyyu *et al.*, 2003).

En relación con la **mayor eliminación** de huevos de strongílidos en las **explotaciones que no estaban incluidas en ADSG**, esto puede deberse a que estos rebaños llevan a cabo un programa sanitario que incluye el control de parásitos internos y externos y de otras enfermedades infecciosas, así como determinadas medidas de bioseguridad para evitar la entrada de infecciones en las granjas, como programas DDD. Todas estas medidas, además de permitir una menor contaminación del medio, suelen estar acompañadas de un manejo más profesional de los pastos y de los animales, lo que reduce las probabilidades de que estos se infecten. Además, la presencia de otras infecciones concomitantes, más frecuentes en explotaciones que no realizan programas de control de enfermedades, influyen de manera negativa en el sistema inmunitario del hospedador, favoreciendo el desarrollo de otros parásitos (Else, 2005); se debe tener en cuenta que la aparición de manifestaciones clínicas de gastroenteritis parasitarias dependen de las especies presentes, de la carga parasitaria y del estado inmunológico del hospedador (Hungerford, 1990).

Además, otro de los factores asociados de forma significativa con la intensidad de eliminación de huevos de strongílidos fue el **tipo de manejo**. Mediante el test de Tukey HSD se constató que las diferencias en los recuentos de huevos eran significativos entre todos los grupos (intensivo-extensivo  $p < 0,001$ ; semiextensivo-extensivo  $p < 0,001$ ; semiextensivo-intensivo  $p = 0,003$ ). Las mayores cifras de eliminación de huevos se observaron en los animales que se encontraban permanentemente en los pastos, coincidiendo con los resultados

de otros estudios (Cabaret *et al.*, 1989; Manfredi *et al.*, 2010; Di Cerbo *et al.*, 2010). Estos datos se relacionan con una mayor exposición a las fases libres del parásito, de modo que, cuanto más tiempo permanezcan los animales en el pasto, más probabilidades tendrán de ingerir las larvas infectantes de los nematodos gastrointestinales.

Aunque estadísticamente la edad no se puede considerar en este estudio como un factor de riesgo, se halló mayor eliminación en las cabras de más edad, lo que concuerda con lo observado previamente en cabras de raza galega (Béjar, 2011). Por el contrario, Vázquez-Rodríguez (2016) en cabras mantenidas en régimen intensivo en Galicia, comprobaron que la eliminación media fue significativamente superior en los animales jóvenes que en los de mayor edad. Por el contrario, en ganado ovino sacrificado en un matadero de León, Díez-Baños *et al.* (1992) concluyeron que la edad no influía significativamente sobre la intensidad de eliminación, siendo las interacciones interespecíficas las que realmente influían sobre la prevalencia e intensidad de los nematodos gastrointestinales en ovinos en pastoreo.

En relación con la **presencia o ausencia de ovejas** en las explotaciones, en nuestro estudio, las cifras de eliminación fueron ligeramente superiores en los rebaños en los que las cabras no convivían con las ovejas. Por el contrario, Vázquez-Rodríguez (2016), en cabras en pastoreo intensivo en Galicia, observaron que las cifras medias de excreción de huevos de strongílidos fueron significativamente superiores en los rebaños en los que había ovejas que en los que solo había cabras, lo que coincide con los datos obtenidos por Domke *et al.* (2013) en caprino de Noruega. En este sentido, se ha señalado que los rebaños mixtos, o aquellas granjas de cabras cercanas a explotaciones de ovejas, tienen un mayor riesgo de infección (Di Cerbo *et al.*, 2010), puesto que las cabras son más sensibles a la infección con nematodos gastrointestinales que las ovejas, presentando mayores cargas parasitarias y cifras de eliminación de huevos (Hoste y Chartier, 1993; Chartier y Hoste, 1997; Manfredi *et al.* 2010). No obstante, es necesario realizar investigaciones más amplias con objeto de estudiar el efecto de la explotación conjunta de cabras y ovejas sobre la transmisión de los strongílidos.



## **ESTUDIO II: Estudio de los parásitos que afectan al aparato respiratorio**





## 3.2. Estudio de los parásitos que afectan al aparato respiratorio

### 3.2.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En el ganado caprino y ovino las infecciones broncopulmonares de etiología parasitaria están producidas por nematodos de las familias Dictyocaulidae y Protostrongylidae y se caracterizan por sintomatología poco manifiesta, baja mortalidad, elevada morbilidad y, generalmente, cursan de forma crónica. La dictiocaulosis se diferencia de las protostrongilidosis en su ciclo biológico, siendo directo en el primer caso e indirecto en el segundo. Además, la dictiocaulosis de los pequeños rumiantes solo está producida por una especie *D. filaria*, mientras que en las protostrongilidosis pueden intervenir 4 especies, *C. ocreatus*, *M. capillaris*, *N. linearis* y *Protostrongylus* spp.

Las bronconeumonías parasitarias han sido ampliamente estudiadas en los ovinos, siendo escasas las investigaciones realizadas en el ganado ovino, a pesar de que, diversos autores (Mangeon y Cabaret, 1987; Alemu *et al.*, 2006; Berrag y Urquhart, 1996; Suárez *et al.*, 2014) han señalado que las cabras son más sensibles que las ovejas a las infecciones por nematodos broncopulmonares. Además, y debido a los diferentes factores que intervienen en la epidemiología de estas parasitosis, es necesario establecer en zonas concretas, como es el caso del ganado caprino en Galicia, cuales son los principales factores de riesgo que intervienen en la prevalencia e intensidad de infección por nematodos broncopulmonares.

Basándonos en los Antecedentes señalados en el correspondiente apartado, en este estudio nos planteamos los siguientes **OBJETIVOS**:

1º. Conocer cuáles son las principales especies de nematodos broncopulmonares que afectan al ganado caprino en Galicia.

2°. Determinar cuáles son los principales factores de riesgo que influyen sobre la prevalencia de estas infecciones parasitarias.

### 3.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.2.2.1. Análisis coprológicos

Las heces se extrajeron directamente del recto de las cabras con guantes de plástico, y se conservaron a 4°C hasta su procesamiento, que se realizó antes de que transcurriesen 48 horas desde su recogida. Con objeto de identificar las formaciones parasitarias presentes, cada una de las muestras fecales se analizó, por duplicado, empleando la técnica de migración larvaria (Manual de Técnicas del Laboratorio Central Veterinario de Weybridge, M.A.F.F., 1986).

Se pesaron 10 gramos de heces y se envolvieron en tejido no-tejido (Filter-Lab, Filtros Anioia, S.A., Barcelona, España). Posteriormente, se colocaron en el interior de aparatos de migración larvaria Baermann (Figura 3.2.1.) y se cubrieron con agua tibia, para favorecer la migración de las larvas de los nematodos pulmonares desde el interior de las heces al exterior del tejido. Una vez que las larvas migran al agua, por gravedad caen a la parte inferior del embudo. Tras un periodo de 24 horas, se abrió la llave de paso y se recogió el primer líquido en un tubo de 15 ml. Con objeto de que las larvas se concentrasen en el fondo, los tubos se centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y las larvas se concentraron en un volumen de 2 ml; a continuación, se homogeneizó el líquido y se examinó al microscopio (4 x) en una cámara de Favati.

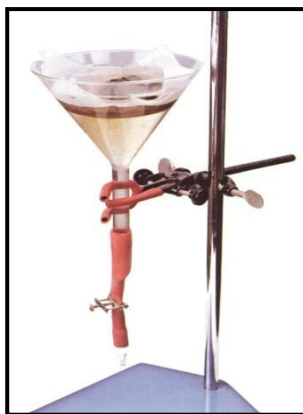


Figura 3.2.1. Aparato de Baermann empleado para realizar la migración larvaria

Para determinar el número de larvas por gramo de heces (lpg), se dividió el número de larvas entre el número de gramos de la correspondiente muestra fecal. Las larvas de las especies de nematodos broncopulmonares que afectan a la cabra en Galicia se identificaron en base a las descripciones realizadas por Díez-Baños *et al.* (1999).

#### **3.2.2.2. Factores de riesgo**

Para determinar la posible influencia de algunas variables de riesgo que pueden influir sobre la prevalencia de los nematodos broncopulmonares, simultáneamente a la recogida de heces y, como se indicó en el Estudio I, al propietario de cada una de las explotaciones se le realizó una encuesta epidemiológica similar a la efectuada para las infecciones que afectan al aparato digestivo. Para determinar la presencia de larvas de Dictyocaulidae y Protostrongylidae, se muestrearon un total de 380 cabras.

#### **3.2.2.3. Análisis estadísticos**

La prevalencia de infección se analizó mediante una regresión logística mixta. La variable dependiente binaria fue la positividad o no a protostrongílidos o *D. filaria*. La granja se introdujo como factor aleatorio para controlar su efecto sobre el resto de los actores. Los factores de riesgo introducidos en la Tabla 3.2.1. fueron introducidos todos en un inicio y eliminados uno a uno según los valores obtenidos de p mediante un método condicional hacia atrás hasta lograr el mejor modelo. Luego, se analizó el efecto de cada uno los factores biológicamente plausibles resultantes en cada modelo. Estos análisis estadísticos se realizaron con la función `glmer()` del paquete `lme4` en el software estadístico R (R v.3.1.1; R Development Core Team, 2014 y R v.3.3.2; R Development Core Team, 2016).

Para valorar el posible efecto de estos factores sobre la intensidad de eliminación larvaria se utilizó un ANOVA multifactorial sobre los resultados en larvas por gramo (lpg) de los animales positivos utilizando la función `aov()` del paquete `stats`. La variable dependiente —lpg. de protostrongílidos o *D. filaria* eliminadas por los animales positivos— fue previamente transformada a logaritmo base natural para normalizar la distribución de los datos analizados. Se aplicó una técnica condicional hacia atrás que fue eliminando uno a uno los factores hasta conseguir el mejor modelo (AIC más bajo); para ello se aplicó la función

step() del paquete MASS. Para descubrir las diferencias entre pares para aquellos factores con más de 2 categorías se aplicó la función TukeyHSD() del paquete stats.





**Tabla 3.2.1. Número de animales muestreados para establecer la prevalencia e intensidad de eliminación por broncopulmonares según las diferentes variables incluidas como factores de riesgo.**

Variables		Dictyocaulidae	Protostrongylidae
Edad (meses)	<12	20	20
	13-48	182	182
	> 48	178	178
Sexo	Hembra	344	344
	Macho	36	36
Raza	Cruce	145	145
	“Galega”	208	208
	De leche	27	27
Sistema de manejo	Intensivo	27	27
	Semiextensivo	324	324
	Extensivo	29	29
Tamaño de rebaño (Nº de animales)	< 96	104	104
	96-194	113	113
	> 194	163	163
Presencia de ovejas	No	199	199
	Si	181	181
Desparasita	No	34	34
	Si	346	346
ADSG	No	72	72
	Si	308	308
Tª media (°C)	Hasta 10	88	88
	Más de 10	292	292
Precipitación (mm)	< 800	141	141
	800-1000	75	75
	> 1000	164	164
Altitud (m)	Alta (>490)	214	214
	Baja (<490)	166	166
Area geográfica	Costa-Centro	243	243
	Montaña	137	137

### 3.2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.2.3.1. Prevalencia e identificación larvaria

Las principales características morfológicas en las que nos basamos para identificar las larvas de primer estadio de *D. filaria* (Figura 3.2.2.a), de *M. capillaris* (Figura 3.2.2.b), *Neostongylus linearis* (Figura 3.2.2.c) y de *Cystocaulus ocreatus* (Figura 3.2.2.d) se reflejan en las correspondientes fotografías.

	
<p><b>Figura 3.2.2.a. L1 de <i>Dictyocaulus filaria</i></b></p>	<p><b>Figura 3.2.2.b. L1 de <i>Muellerius capillaris</i></b></p>
	
<p><b>Figura 3.2.2.c. L1 de <i>Neostongylus linearis</i></b></p>	<p><b>Figura 3.2.2.d. L1 de <i>Cystocaulus ocreatus</i></b></p>

La prevalencia y las cifras medias de eliminación fueron netamente inferiores para *D. filaria* (2,43%;  $\bar{x}$ = 2,6; D.E. 4,75) que para los protostrongílidos (90,0%;  $\bar{x}$ = 172,0; D.E. 460,5). Estos resultados coinciden con los hallados por Alasaad *et al.* (2009), en cabras ibéricas de Sierra Nevada, quienes comprobaron que la prevalencia y las cifras de lpg en tejido pulmonar de *D. filaria* (4,2%;  $\bar{x}$ = 0,36) eran netamente inferiores a las de protostrongílidos (100%;  $\bar{x}$ = 36,4; D.E. 13,2).

En relación con los protostrongílidos, se comprobó que la mayoría de la larvas eran de *Muellerius capillaris* (100% de los animales positivos) y se observó una menor proporción de *Neostrongylus linearis* (4,5%) y de *Cystocaulus ocreatus* (0,3%). Por el contrario, en cabras ibéricas de Sierra Nevada, Alasaad *et al.* (2009) comprobaron que la prevalencia de *M. capillaris* (36,4) y de *C. ocreatus* (36,1%) eran similares.

### **3.2.3.2. Influencia de los diferentes factores de riesgo**

En *D. filaria*, al considerar la influencia de los diferentes **factores de riesgo**, como se observa en la Tabla 3.2.2. y como habíamos señalado previamente, tanto la prevalencia como la intensidad de infección fue muy baja. De hecho, de las 370 cabras analizadas, solo eliminaron larvas de este nematodo 9 animales, por lo que no fue posible realizar ningún análisis estadístico. En ganado ovino, diversos autores (Morrondo *et al.*, 1978; Díez-Baños *et al.*, 1989 a; Martínez *et al.*, 1989 b; Garijo *et al.*, 2007; Cienfuegos *et al.*, 2007) señalaron que la edad de los animales influye sobre la eliminación de larvas de *D. filaria*, siendo mayor en los más jóvenes; sin embargo, en este estudio y probablemente debido a la escasa prevalencia hallada, tanto la prevalencia como las cifras medias de eliminación fueron similares en los 3 grupos de edad.

Como se observa en la Tabla 3.2.3, la **prevalencia de infección por larvas de prostrongílidos** fue, en general, elevada. El porcentaje de infección fue del 100% en los machos, en las cabras explotadas en extensivo y en las granjas en las que no utilizaban tratamientos parasitarios, siendo netamente inferior (66,7%) en las cabras de aptitud lechera y en las explotadas en intensivo. No obstante, mediante regresión logística mixta, estas diferencias no resultaron significativas.

En relación con las **cifras de eliminación**, al considerar la posible influencia de los **factores intrínsecos** (Tabla 3.2.3.), se observó que las cifras medias de eliminación de larvas por gramo de heces de Protostrongylidae, fueron superiores en las hembras, en los animales procedentes de cruces de razas, en los rebaños en extensivo, en las granjas de mediano tamaño, en las explotaciones en las que no desparasitaban y en las que no estaban incluidas en las ADS, así como en los rebaños que pastoreaban en áreas con temperaturas más bajas y mayor altitud que, en general, se corresponde con la zona de montaña. No obstante, mediante

ANOVA multifactorial, se constató que únicamente existían diferencias significativas respecto a las cifras de eliminación al considerar la edad ( $F= 4,158$ ;  $p= 0,006$ ), la raza ( $F= 28,895$ ;  $p< 0,001$ ), sistema de manejo ( $F= 7,199$ ;  $p= 0,008$ ) y la altitud del área ( $F= 23,910$ ;  $p< 0,001$ ).

**Tabla 3.2.2. Prevalencia y eliminación de *D. filaria* según los factores de riesgo**

VARIABLES		Prevalencia (%)		Eliminación		
		%	IC 95%	Nº	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	5,00	0,26-26,94	1	1,5	-
	13-48	1,72	0,45-5,36	3	1,25	1,14
	> 48	2,87	1,06-6,94	5	3,7	6,43
Sexo	Hembra	2,68	1,31-5,20	9	2,7	4,75
	Macho	0,00	0,00-12,64	-	-	-
Raza	Cruce	3,55	1,31-8,51	5	4,0	6,29
	“Galega”	1,97	0,63-5,30	4	1,0	1,02
	De leche	0,00	0,00-16,02	-	-	-
Sistema de manejo	Intensivo	0,00	0,00-16,02	-	-	-
	Semiextensivo	2,22	0,97-4,71	7	3,3	5,27
	Extensivo	7,10	1,25-24,96	2	0,34	0,11
Tamaño de rebaño (Nº animales)	< 96	0,97	0,05-6,07	1	0,42	-
	96-194	6,54	2,90-13,48	7	3,3	5,27
	> 194	0,62	0,03-3,96	1	0,26	-
Presencia de ovejas	No	0,53	0,03-3,35	1	0,26	-
	Si	4,44	2,08-8,88	8	2,9	4,99
Desparasita	No	5,88	1,03-21,06	2	1,7	1,15
	Si	2,08	0,92-4,43	7	2,9	5,43
ADSG	No	4,17	1,08-12,50	3	1,27	1,09
	Si	2,01	0,82-4,55	6	3,3	5,82
Tª media (°C)	Hasta 10	9,41	4,44-18,20	8	2,9	5,00
	Más de 10	0,35	0,02-2,25	1	0,42	-
Precipitación (mm)	< 800	0,72	0,04-4,54	1	0,42	-
	800-1000	11,3	5,34-21,53	8	2,9	5,00
	> 1000	0,00	0,00-2,92	-	-	-
Altitud (m)	Alta (>490)	4,26	2,10-8,21	9	2,7	4,75
	Baja (<490)	0,00	0,00-2,94	-	-	-
Área geográfica	Costa-Centro	0,00	0,00-1,99	-	-	-
	Montaña	6,77	3,34-12,83	9	2,7	4,75



Tabla 3.2.3. Prevalencia y eliminación de protostrongílidos al tener en cuenta los factores de riesgo

VARIABLES		Prevalencia (%)		Eliminación		
		%	IC 95%	Nº	Media	D.E.
Edad (meses)	<12	90,00	66,87-98,25	18	36	56,4
	13-48	84,53	78,24-89,31	151	133	324,6
	> 48	95,48	90,98-97,88	169	224	571,9
Sexo	Hembra	88,95	85,04-91,97	304	177	477,8
	Macho	100,00	87,99-100,00	36	128	273,2
Raza	Cruce	84,83	77,71-90,05	122	232	669,3
	“Galega”	96,63	92,91-98,52	201	150	288,9
	De leche	66,67	46,02-82,76	17	8,5	17,0
Sistema de manejo	Intensivo	66,67	46,02-82,76	17	8,5	17,0
	Semiextensivo	91,05	87,27-93,82	294	151	412,3
	Extensivo	100,00	85,44-100,00	29	478	818,4
Tamaño de rebaño (Nº animales)	< 96	86,54	78,11-92,18	148	133	305,9
	96-194	91,15	83,94-95,44	103	263	709,6
	> 194	91,41	85,74-95,05	89	133	251,0
Presencia de ovejas	No	91,96	87,04-95,19	181	138	302,5
	Si	87,85	81,97-92,06	159	211	589,7
Desparasita	No	100,00	87,36-100,00	34	241	357,7
	Si	89,02	85,12-92,02	306	165	470,3
ADSG	No	91,67	82,12-96,57	66	184	281,5
	Si	89,61	85,52-92,68	274	169	494,3
Tª media (°C)	Hasta 10	93,18	85,19-97,20	81	226	539,4
	Más de 10	89,04	84,75-92,27	259	155	432,6
Precipitación (mm)	< 800	87,23	80,32-92,05	122	212	574,0
	800-1000	94,67	86,19-98,28	70	166	419,7
	> 1000	90,24	84,38-94,14	148	142	364,4
Altitud (m)	Alta (>490)	94,39	90,17-96,94	201	238	579,0
	Baja (<490)	84,34	77,70-89,33	139	76	139,0
Área geográfica	Costa-Centro	86,83	81,77-90,69	210	160	472,1
	Montaña	95,62	90,30-98,21	130	192	442,1

Respecto a la **edad de los animales**, se constató que las diferencias se debían a la mayor eliminación de larvas de protostrongílidos en las cabras más viejas ( $\bar{x}$ = 224; D.E. 571,9) que en las más jóvenes ( $\bar{x}$ = 36; D.E. 56). Estos resultados coinciden con los hallados por nosotros (Béjar, 2011) en un estudio previo realizado en cabras de raza galega, en el que se comprobó que tanto la prevalencia como la intensidad de parasitación era superior en los animales de mayor edad (100%;  $\bar{x}$  = 244±333) que en los más jóvenes (85,7%;  $\bar{x}$ = 179±251).

En relación con la **raza y el sistema de explotación**, las cifras de eliminación fueron superiores en las cabras procedentes de cruces ( $\bar{x} = 232$ ; D.E. 669,3) que en las de aptitud láctea ( $\bar{x} = 8,5$ ; D.E. 17,0) y en las mantenidas en extensivo ( $\bar{x} = 478$ ; D.E. 818,4) mantenidas en intensivo ( $\bar{x} = 8,5$ ; D.E. 17). La mayor eliminación observada en las cabras procedentes de cruces y en las explotadas en extensivo concuerda con lo señalado por Morondo *et al.* (1987, 1988, 1992 a, 2005) ya que, según estos autores, la explotación extensiva de las ovejas favorece que éstas ingieran moluscos con larvas infectantes de forma continua y progresiva, lo que se traduce en que, posteriormente, los ovinos presenten mayor prevalencia y eliminación por protostrongídeos.

La **altitud de la zona** influyó sobre las, cifras de eliminación siendo esta superior en las zonas más elevadas ( $\bar{x} = 238$ ; D.E. 579) que en las más bajas ( $\bar{x} = 76$ ; D.E. 139). Aunque no existieron diferencias significativas respecto al área geográfica, sin embargo, la eliminación de larvas de protostrongídeos fue superior en las cabras mantenidas en la montaña ( $\bar{x} = 192$ ; D.E. 442,1) caracterizada por tener altitudes más elevadas, que las explotadas en la Costa-Centro ( $\bar{x} = 160$ ; D.E. 472,1). Estos resultados difieren de los hallados en cabras de raza Galega (Béjar, 2011), ya que en ese caso la intensidad de eliminación era mayor en las cabras de la zona centro ( $\bar{x} = 258$ ; D.E. 338 lpg) que en las de la montaña ( $\bar{x} = 125$ ; D.E. 198), aunque estas diferencias carecieron de significación estadística.

En el análisis sobre la intensidad de eliminación, además de los factores indicados en la Tabla 3.2.3, se introdujo como posible factor de riesgo la infección por nematodos gastrointestinales (NGI), ya que estos presentan un amplio rango de mecanismos inmuno-reguladores que pueden modificar y disminuir la respuesta inmune defensiva del hospedador (Else, 2005), lo que podría favorecer como efecto secundario el desarrollo de otros agentes infecciosos o parasitarios. El análisis mostró que la **infección por nematodos gastrointestinales** favorece el desarrollo y eliminación de los protostrongídeos ( $F = 18,540$ ;  $p < 0,001$ ), constatándose que la eliminación larvaria en los animales positivos a NGI fue significativamente superior ( $\bar{x} = 187$ ; D.E. 490,0) que en los no infectados ( $\bar{x} = 79$ ; D.E. 160,3). El efecto favorecedor de la infección por NGI sobre el desarrollo de otras infecciones parasitarias ya había sido observado en terneros por Kloosterman *et al.* (1990, 1989), quienes

señalaron que las infecciones mixtas de *Ostertagia ostertagi* y *Cooperia oncophora* aumentaban el establecimiento (177% más) y la eliminación larvaria (325% más que los no infectados) de *D. viviparus*. Además, estos resultados son los esperables si se tiene en cuenta que las protostrongilidosis son procesos ligados al pastoreo (Díez Baños *et al.*, 1999, 2003), debido a que es necesario, para que se complete su ciclo biológico, que en el área donde pasten los animales existan moluscos gasterópodos terrestres que actúen como H.I. (López *et al.*, 1997, 1998; Morrondo *et al.*, 2005).



## **ESTUDIO III: Estudio de los parásitos que afectan al aparato reproductor**



### 3.3. Estudio de los parásitos que afectan al aparato reproductor

#### 3.3.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las principales infecciones parasitarias que afectan a la reproducción en los rumiantes son las ocasionadas por *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*. Estas infecciones ocasionan importantes pérdidas económicas en las explotaciones, debido a que interfieren en la reproducción en los rumiantes provocando reabsorción o momificación fetal, abortos y nacimientos de animales débiles o con problemas nerviosos (Dubey *et al.*, 2011).

La toxoplasmosis se considera la mayor causa de problemas reproductivos en el ganado ovino y caprino (Reichel *et al.*, 2013). Además, es una zoonosis que puede afectar al hombre cuando ingiere carne de estos animales infectada con quistes tisulares de *T. gondii* o cuando ingiere de forma accidental ooquistes esporulados eliminados por los gatos que hay en las explotaciones (Dubey y Schares, 2011).

*N. caninum* es responsable de fallos en la reproducción en diversas especies animales, entre ellos los pequeños rumiantes, aunque es especialmente frecuente en ganado vacuno (Abo-Shehada y Abu-Halaweh, 2010; Reichel *et al.*, 2013).

En el NO de España se han realizado numerosos estudios sobre la presencia de estos protozoos en rumiantes domésticos, señalando valores de seroprevalencia de 38-58% y 7% para *T. gondii* y de 6-10% y 16-24% para *N. caninum* en ganado ovino y vacuno, respectivamente (Panadero *et al.*, 2012; Díaz *et al.*, 2014; Eiras *et al.*, 2011; González-Warleta *et al.*, 2008); por el contrario, son escasos los estudios que se han realizado en cabras (Díaz-Cao, 2016).

Basándonos en los estudios realizados en el correspondiente apartado de Antecedentes, nos planteamos los siguientes **OBJETIVOS**:

1°. Determinar la seroprevalencia de *T. gondii* y *N. caninum* tanto individual como en los rebaños de cabras explotadas en Galicia.

2°. Conocer cuáles son los principales factores de riesgo que influyen sobre la seroprevalencia de estas infecciones parasitarias.

### **3.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.3.2.1. Estudio serológico**

El tamaño de la muestra se calculó teniendo en cuenta un intervalo de confianza del 99% y una precisión del 95%, considerando un valor de seroprevalencia del 57% en base a estudios previos realizados en ganado ovino explotado en la misma zona de estudio (Panadero *et al.*, 2010; Díaz *et al.*, 2014); así, entre 2010 y 2013 se recogieron muestras de sangre de 682 cabras que pertenecían a 54 granjas.

La sangre se extrajo mediante punción en la vena yugular empleando tubos estériles al vacío Vacutainer® CAT (Becton and Dickinson, Nueva Jersey, EE.UU.) de 10 ml, sin anticoagulante. Una vez en el laboratorio, y para favorecer la retracción del coágulo y el posterior desuerado, las muestras se mantuvieron 24 horas en refrigeración. Posteriormente, se centrifugaron a 3000  $\times$  g durante 10 minutos en una centrífuga modelo Mixtasel (P SELECTA®, España) y el suero se congeló a -20 °C hasta su empleo.

Para la detección de anticuerpos frente a *T. gondii* y *N. caninum* se utilizaron kits comerciales. Para *T. gondii* se empleó el test de aglutinación directa (DAT) Toxo-Screen DA® (BioMerieux®, Lyon, Francia) que permite la detección exclusiva de las IgG anti-*Toxoplasma* del suero mediante el uso de toxoplasmas formolados y de un tampón de dilución con mercaptoetanol, que destruye las IgM. La técnica se llevó a cabo de acuerdo con los reactivos del kit y siguiendo las instrucciones del fabricante. En cuanto a la lectura, las muestras negativas sedimentan en forma de botón o anillo (Figura 3.3.1.a), mientras que la reacción se considera positiva cuando los toxoplasmas se aglutinan en forma de velo, tapizando aproximadamente la mitad del fondo del pocillo (Figura 3.3.1.b). Según el fabricante, este test presenta una sensibilidad del 96,2% y una especificidad del 98,8%. Debido a que la



interpretación de los resultados tiene un cierto componente subjetivo, los casos dudosos se contrastaron con la técnica de aglutinación en látex Pastorex Toxo (Bio-Rad, Francia).

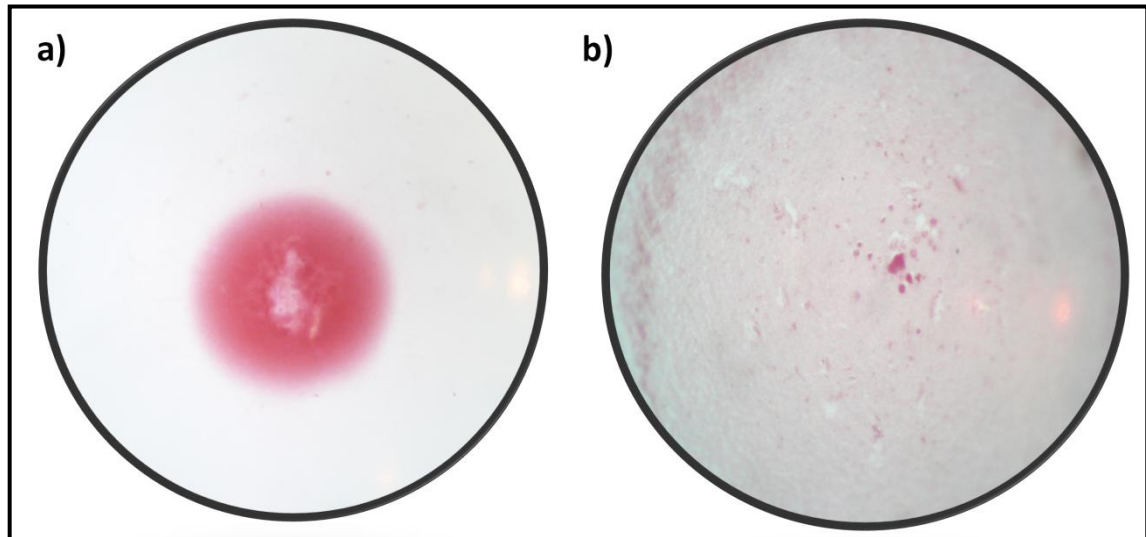


Figura 3.3.1. Muestra negativa (a) y positiva (b) a anticuerpos anti-*T. gondii* mediante DAT Toxo-Screen DA®.

Con objeto de detectar anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum* se utilizó una técnica ELISA de competición (cELISA-VMRD, VMRD, Pullman, EE.UU.) de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Los sueros se consideraron positivos cuando el porcentaje de inhibición fue superior al 30%. La sensibilidad (Se) y especificidad (Es) de la técnica fueron las indicadas por el fabricante.

Debido a que tanto la sensibilidad como la especificidad de las pruebas diagnósticas empleadas (ELISA) no alcanzan el 100% (Toft et al., 2007), el criterio empleado para clasificar una explotación como positiva fue presentar una seroprevalencia real (PR)  $\geq 1\%$ . Para el cálculo de la misma se empleó la fórmula descrita por Thrusfield (2005):

$$PR = \frac{P + \text{especificidad} - 1}{\text{sensibilidad} + \text{especificidad} - 1}$$

### 3.3.2.2. Factores de riesgo

Con objeto de investigar la posible influencia de algunas variables sobre la seroprevalencia de *T. gondii* y *N. caninum*, como se indicó en el Estudio I, se realizó una encuesta a los ganaderos en la misma visita donde se tomaron las muestras de sangre, cuyos resultados se indican en la Tabla 3.3.1.

**Tabla 3.3.1. Número de animales muestreados para *T. gondii* and *N. caninum* al considerar las diferentes variables incluidas como factores de riesgo**

Variables		<i>Toxoplasma</i>	<i>Neospora</i>
Edad (meses)	<12	65	65
	13-48	329	329
	> 48	276	276
Sexo	Hembra	641	641
	Macho	41	41
Raza	Cruce	458	458
	“Galega”	201	201
	De leche	23	23
Sistema de manejo	Intensivo	23	23
	Semiextensivo	593	593
	Extensivo	66	66
Tamaño de rebaño (Nº de animales)	< 96	130	130
	96-194	220	220
	> 194	332	332
Presencia de ovejas	No	200	200
	Si	482	482
Desparasita	No	36	36
	Si	646	646
ADSG	No	78	78
	Si	604	604
Tª media (°C)	Hasta 10	142	142
	Más de 10	540	540
Precipitación (mm)	< 800	340	340
	800-1000	127	127
	> 1000	215	215
Altitud (m)	Alta (>490m)	331	331
	Baja (<490m)	351	351
Área geográfica	Costa-Centro	512	512
	Montaña	170	170
Total		682	682

No se tuvo en cuenta la presencia de gatos o perros como hospedadores definitivos de *T. gondii* y de *N. caninum*, respectivamente, debido a que estos estaban presentes en todas las explotaciones.

### 3.3.2.3. Análisis estadísticos

La seropositividad se analizó mediante una regresión logística de efectos mixtos. Como variable dependiente se tomó la seropositividad a *T. gondii* o *N. caninum*, y el rebaño se introdujo como factor aleatorio para contrarrestar su efecto sobre el resto de factores. Todas las variables antes descritas se introdujeron en el modelo y se eliminaron de una en una en base al valor de AIC (Akaike Information Criterion) hasta que se obtuvo el mejor modelo. Posteriormente, se evaluaron todas las interacciones biológicamente plausibles. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico R (R v.3.1.1; R Development Core Team, 2014), empleando la función `glmer()` del paquete estadístico `lme4`.

### 3.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.3.3.1. Seroprevalencia

Al considerar los animales individualmente, la seroprevalencia real de *T. gondii* fue elevada (46,2%; IC95% 42,4%-50,0%) y también lo fue a nivel de rebaño (39/54; 72,2%); la seroprevalencia real intra-rebaño fue del 52,9% (5,9%-100%). En el caso de *N. caninum* se observó que tanto la seroprevalencia real individual (7,2%; IC95% 5,4%-9,5%), como la de rebaño (19/54; 35,2%) y la intra-rebaño (11,2%; min 2,7% - máx. 100%) eran sensiblemente inferiores a las observadas para *T. gondii*. Estos resultados indican una amplia diseminación de ambos parásitos en caprino de Galicia, coincidiendo con los hallados por Díaz-Cao (2016) quien, en cabras de la misma área de estudio, comprobó que el 37,1% de los animales y el 80% de los rebaños eran seropositivos a *T. gondii*, mientras que sólo el 2,3% de las cabras lo fueron a *N. caninum*, aunque el 60% de las granjas poseían algún animal positivo.

La mayor seropositividad para *T. gondii* que para *N. caninum* observada en los rebaños de cabras en Galicia coincide con la hallada en la gran mayoría de los trabajos serológicos donde se estudió la presencia de ambos protozoos en ganado caprino, tanto en aquellos realizados en Europa (Czopowicz *et al.*, 2011; Bartova y Sedlak, 2012; Iovu *et al.*, 2012;

Čobádiová *et al.*, 2013; Diakou *et al.* 2013), como en América (Figliuolo *et al.*, 2004; Faria *et al.*, 2007; de Lima *et al.*, 2008) o Asia (Liu *et al.*, 2015). En estas investigaciones, la seropositividad individual de *T. gondii* osciló entre el 17% y el 100%, mientras que el porcentaje de seropositivos a *N. caninum* fue siempre inferior al 16%, lo que sugiere una mayor sensibilidad de las cabras a la infección por *T. gondii*. En este sentido, la seroprevalencia intra-rebaño para *N. caninum* fue considerablemente inferior a la de *T. gondii*, a pesar de que un importante porcentaje de granjas resultaron positivas.

Los notables valores de seroprevalencia para *T. gondii* y *N. caninum* hallados en ganado caprino de Galicia coinciden con los observados en estudios previos realizados en ganado vacuno y ovino de esta Comunidad Autónoma (Panadero *et al.*, 2012; Díaz *et al.*, 2014; Eiras *et al.*, 2011; González-Warleta *et al.*, 2008). Estos resultados indican que las condiciones climáticas de esta región son adecuadas para la supervivencia de los ooquistes de estos protozoos en el medio, y que el manejo del ganado caprino en esta zona facilita su contacto con los hospedadores definitivos de *T. gondii* (gatos y otros félidos) y de *N. caninum* (perros y otros cánidos), lo que favorece que el ciclo biológico de estos parásitos se complete. Además, la elevada seroprevalencia de *T. gondii* implica un importante problema de salud pública, puesto que se ha demostrado que el consumo de leche cruda (y sus productos) o carne cruda o poco cocinada de cabra representa una fuente potencial de infección para el ser humano (Tenter *et al.*, 2000; Jones y Dubey, 2012). Es por ello que se debe educar sobre el riesgo zoonótico que conlleva el manipular estos productos, especialmente a profesionales como veterinarios, ganaderos o matarifes.

#### **3.3.3.2. Influencia de los diferentes factores de riesgo**

En la Tabla 3.3.2 se resume la seroprevalencia de *T. gondii* y de *N. caninum* al considerar la posible influencia de las variables analizadas. Al analizar los resultados se apreció que la seroprevalencia de ambos protozoos fue superior en los animales de mayor edad que pastaban en la zona Costa-Centro, en áreas de baja altitud y con precipitaciones entre 800 y 1000 metros, en los que se explotaban en semiextensivo, en las cabras procedentes de cruces, en los rebaños de mediano tamaño y en las explotaciones en las que había ovejas. También se detectaron mayores porcentajes de exposición a estos parásitos en cabras de rebaños pertenecientes a ADSG y que aplicaban un tratamiento antihelmíntico de manera rutinaria. Por el contrario, la seropositividad a *T. gondii* fue similar al considerar el sexo de los

animales, mientras que fue superior en las hembras en el caso de *N. caninum*. Finalmente se observó un mayor porcentaje de animales seropositivos a *N. caninum* en zonas con temperaturas medias inferiores a 10°C, al contrario que para *T. gondii*.

**Tabla 3.3.2. Porcentaje de seropositividad para *T. gondii* y *N. caninum* al tener en cuenta las diferentes variables estudiadas**

VARIABLES		<i>Toxoplasma</i> - Prevalencia		<i>Neospora</i> - Prevalencia	
		%	IC 95%	%	IC 95%
Edad (meses)	<12	46,15	33,88-58,88	6,15	1,99-15,79
	13-48	40,73	35,41-46,27	5,78	3,61-9,02
	> 48	53,26	47,19-59,24	9,06	6,06-13,24
Sexo	Hembra	46,18	42,28-50,17	7,33	5,49-9,70
	Macho	46,34	30,97-62,39	4,88	0,85-17,81
Raza	Cruce	57,21	52,52-61,76	9,39	6,95-12,53
	“Galega”	25,87	20,08-32,60	2,99	1,22-6,69
	De leche	4,35	0,23-23,97	0,00	0-17,81
Sistema de manejo	Intensivo	4,35	0,23-23,97	0,00	0-17,81
	Semiextensivo	50,59	46,49-54,68	7,76	5,79-10,29
	Extensivo	21,21	12,48-33,34	4,55	1,18-13,56
Tamaño de rebaño. (Nº de animales)	< 96	26,15	19,02-61,65	1,54	0,27-6,01
	96-194	55,45	48,17-61,65	10,91	7,25-15,98
	> 194	47,89	42,42-53,41	6,93	4,54-10,36
Presencia de ovejas	Si	51,66	47,10-56,19	8,51	6,24-11,45
	No	33,00	26,62-40,04	4,00	1,87-8,01
Desparasita	No	5,56	0,96-20,01	0,00	0-12,01
	Si	48,45	44,54-52,38	7,59	5,72-9,97
ADSG	No	11,54	5,74-21,26	0,00	0-5,85
	Si	50,66	46,60-54,71	8,11	6,12-10,66
Tª media (°C)	Hasta 10	33,80	26,22-42,28	9,86	5,70-16,28
	Más de 10	49,44	45,15-53,74	6,48	4,62-8,99
Precipitación (mm)	< 800	46,18	40,81-51,64	7,06	4,67-10,46
	800-1000	46,46	37,64-55,49	8,66	4,62-15,32
	> 1000	46,05	39,29-52,95	6,51	3,74-10,91
Altitud (m)	Alta (>490m)	35,65	30,54-41,10	5,44	3,35-8,61
	Baja (<490m)	56,13	50,75-61,36	8,83	6,17-12,43
Área geográfica	Costa-Centro	56,45	52,02-60,77	8,20	6,04-11,01
	Montaña	15,29	10,41-21,79	4,12	1,82-8,63

Los resultados de la regresión logística de efectos mixtos (Tabla 3.3.3.) indicaron que la seroprevalencia de *T. gondii* está determinada significativamente por el **área geográfica**, la

**presencia de ovejas en la granja, pertenencia a una ADSG y la seropositividad a *N. caninum*.** Así, las cabras de la zona costa-centro mostraron una probabilidad de ser seropositivas 10,8 (IC95% 3,2-36,5) veces más elevada que aquellas de la zona de montaña. Además, el riesgo de ser seropositivo fue 5,1 (IC95% 1,6-16,5) veces más elevado en rebaños que incluían ovejas, 5,1 (IC95% 1,1-23,9) en animales pertenecientes a granjas en ADSG y 17,5 (IC95% 4,8-63,5) veces superior en las cabras positivas a *N. caninum*.

**Tabla 3.3.3. Resultados de la regresión logística de efectos mixtos para identificar los factores de riesgo asociados con la seroprevalencia individual a *T. gondii* y *N. caninum*.**

	Estimación	Error Estándar	P
<b><i>T. gondii</i></b>			
(Intercept)	-0,788	0,819	0,336
Seropositividad a <i>Neospora</i>	2,861	0,658	< 0,001
Área geográfica	-2,380	0,621	< 0,001
Presencia de ovejas	-1,632	0,598	0,006
ADSG	1,628	0,788	0,039
<b><i>N. caninum</i></b>			
(Intercept)	-3,930	0,540	< 0,001
Seropositividad a <i>Toxoplasma</i>	2,853	0,534	< 0,001
Temperatura media	-0,888	0,356	0,013

Para *N. caninum*, el análisis multivariante indicó que la **temperatura** y la **seropositividad a *T. gondii*** eran factores asociados de forma significativa con la exposición al protozoo. En este caso, la probabilidad de ser seropositivo fue 2,4 (IC95% 1,2-4,9) veces superior en animales localizados en zonas con temperaturas medias inferiores a 10°C, y 17,3 (IC95% 6,1-49,4) veces más en las positivas a *T. gondii*.

En este estudio se apreció que la **seropositividad a *N. caninum* estaba significativamente asociada con la exposición a *T. gondii*** (OR= 17,3) y **viceversa** (OR= 17,5), constituyendo los factores más determinantes en la probabilidad de exposición a estos protozoos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por González-Warleta *et al.* (2008), quienes también observaron que el ganado vacuno lechero infectado con *T. gondii* mostraba una mayor seroprevalencia de *N. caninum*. En este apartado es importante señalar que, aunque un número reducido de animales mostraron infecciones mixtas, el 91,1% de las cabras seropositivas a *N. caninum* lo eran también a *T. gondii*. Estos resultados coinciden con los hallados por Bartova y Sedlak (2012), quienes utilizando el mismo test ELISA de competición VMRD para detectar anticuerpos específicos frente a *N. caninum*, comprobaron



que todas las cabras seropositivas a *N. caninum* lo eran también a *T. gondii*. En este sentido, Álvarez-García *et al.* (2013) analizaron 458 muestras de suero de vacas infectadas natural y experimentalmente con *N. caninum* mediante el test cELISA VMRD (empleado en el presente estudio), estableciendo que esta técnica presentaba una elevada sensibilidad (98.5-98.9%) pero baja especificidad (65,1-66,5%) cuando se utilizan el valor de punto de corte propuesto por el fabricante (se consideran positivas las muestras que presentan  $\geq 30\%$  de inhibición), lo que, según estos autores, puede ser el resultado de reacciones cruzadas con otros protozoos parásitos, dando lugar a falsos positivos. De hecho, estos autores demostraron que el test VMRD cELISA mostraba un elevado porcentaje de reacciones cruzadas (21,4%) con sueros positivos a *Sarcocystis* spp. Esta baja especificidad puede ser la causa de que el análisis estadístico identifique la seropositividad a *T. gondii* como un factor de riesgo para *N. caninum* y viceversa. Por el contrario, Čobádiová *et al.* (2013) observaron una mayor especificidad para el cELISA-VMRD cuando se usaba como punto de corte el establecido por el comerciante del test.

La **zona** en la que pastaban los animales fue otro de los factores con mayor influencia sobre la exposición a estos protozoos identificado mediante el análisis multivariante; así, se observó que las cabras de la Costa-Centro tenían una probabilidad de ser seropositivas a *T. gondii* 10,8 veces mayor que los de la montaña. Los animales de la zona costa-centro también presentaron las mayores seroprevalencias de *N. caninum*; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. En general, estos resultados coinciden con los hallados previamente en ovejas explotadas en la misma región (Panadero *et al.*, 2012; Díaz *et al.*, 2014), puesto que las condiciones climáticas de esta zona, en la que se registran mayores temperaturas medias y precipitaciones constantes, son más adecuadas para la supervivencia de los ooquistes de *T. gondii* en el medio que las que existen en la montaña (Dubey y Beattie, 1988; Smith y Frenkel, 1995; Wang *et al.*, 2011; Djokich *et al.*, 2014). Además, la zona Costa-Centro está más poblada, por lo que es más frecuente la presencia de animales de compañía como perros y gatos, incrementando el riesgo de infección (Neto *et al.*, 2008; Panadero *et al.*, 2010; Cenci-Goga *et al.*, 2013; Arraes-Santos *et al.*, 2016).

Al considerar otras variables relacionadas con las **condiciones meteorológicas y geológicas**, las mayores seroprevalencias para ambos protozoos se apreciaron en animales de



rebaños localizados en zonas con temperaturas  $> 10^{\circ}\text{C}$ , precipitaciones moderadas (800-1000 mm) y baja altitud ( $< 490$  m), aunque estas diferencias no fueron significativas a excepción de la temperatura media para *N. caninum*. Estos resultados contrastan con la mayoría de los estudios realizados, que afirman que las temperaturas moderadas favorecen la esporulación y supervivencia de los ooquistes del protozoo en el medio (Buxton *et al.*, 1997; Corbellini *et al.*, 2006). En este sentido, Rinaldi *et al.* (2005) encontraron que la temperatura registrada en primavera actúa como un factor de riesgo, de modo que cuanto más elevada era la temperatura mínima, más alta era la prevalencia.

En relación con la **presencia de ovejas** en las explotaciones, ambos protozoos fueron más seroprevalentes en rebaños mixtos (Tabla 3.3.2.). Sin embargo, el análisis de los resultados obtenidos mediante la regresión logística de efectos mixtos permitió comprobar que el riesgo de que las cabras sean seropositivas a *T. gondii* es 5,1 veces más elevado en rebaños que incluían ovejas, mientras que las diferencias no fueron significativas para *N. caninum*. Estos resultados coinciden con los hallados por Gazzonis *et al.* (2015) quienes comprobaron que la seroprevalencia de *T. gondii* era 1,39 veces superior cuando en las explotaciones conviven cabras y ovejas. Además, en rebaños mixtos, Hamilton *et al.* (2014) detectaron una mayor seroprevalencia de *T. gondii* en ovejas que cabras, que relacionaron con su conducta de selección de alimentos; así, las ovejas pastan hierba, mientras que las cabras prefieren alimentos más leñosos localizados en zonas arbustivas y de matorral (Pérez-Creo, 2015). También se debe tener en cuenta que las ovejas utilizan los labios y los dientes para cosechar el pasto; por el contrario, otros rumiantes como las vacas utilizan principalmente la lengua. Esta característica permite a las ovejas pacer la hierba mucho más cerca del suelo que las vacas, dejando residuos menores a 1 cm; incluso pueden llegar a rascar el suelo con la pezuña y arrancar parte de las raíces de la planta (Martínez *et al.*, 2015). Este comportamiento favorece que las ovejas puedan ingerir los ooquistes que contaminan el pasto. Todos estos datos sugieren que la oveja podría facilitar de forma indirecta la exposición del ganado caprino a *T. gondii*; por ello, limitar el número de ovejas en los rebaños de cabras podría constituir un buen método para reducir la difusión de este protozoo. De todos modos, se necesitan nuevas investigaciones que permitan esclarecer las posibles relaciones entre estas dos especies de pequeños rumiantes en la epidemiología de *T. gondii*, lo que permitiría mejorar el conocimiento del comportamiento de la toxoplasmosis en las granjas mixtas.

Otro de los factores que, tras el análisis multivariante, resultó estar asociado de forma significativa con la seroprevalencia a *T. gondii* fue la **pertenencia a una ADSG**; así los animales pertenecientes a rebaños asociados a una ADSG mostraron una mayor exposición al parásito, mostrando un riesgo 5,1 veces mayor. Estos resultados son, en principio, sorprendentes, pues estos ganaderos suelen realizar un manejo más profesionalizado y cumplen con un programa sanitario, por lo que han implementado ciertas medidas de control de enfermedades, como desparasitar y vacunar de forma rutinaria, y llevar a cabo un programa DDD. De hecho, varios estudios señalan que en aquellas granjas más grandes y profesionalizadas se suelen implementar buenas prácticas de bioseguridad y prevención de enfermedades, incluyendo medidas como el control de roedores y gatos en las instalaciones, por lo que los porcentajes de seroprevalencia son menores (Scott *et al.*, 2007, Robert-Gangneux y Dardé, 2012; Cenci-Goga *et al.*, 2013). Sin embargo, en este estudio, los valores de seroprevalencia son también más reducidos en las granjas más pequeñas y, en principio, con un manejo más tradicional. Estos resultados pueden estar, en parte, asociados a una mayor compra y venta de animales en estas granjas incluidas en ADSG, de manera que sea más probable la incorporación de animales seropositivos. Además, aquellas explotaciones con problemas infecciosos, ya sean reproductivos o de otra índole, suelen estar en ADSG, puesto que les permite realizar ciertas analíticas a un menor coste.

Al considerar la **edad de las cabras**, la ausencia de diferencias significativas respecto a la seropositividad a ambos parásitos coincide con lo señalado por Moore *et al.* (2007), Topazio *et al.* (2014), Yin *et al.*, (2015), Gazzonis *et al.* (2016), Bawm *et al.*, (2016) y Maganga *et al.* (2016); estos resultados sugieren que la principal vía de transmisión de ambos protozoos es la vertical. En este sentido, Buxton *et al.* (2001) señalaron que la transmisión vertical de *N. caninum* podría ocurrir con menor intensidad a lo observado en ganado vacuno y González-Warleta *et al.* (2014) describieron un brote de abortos en ovinos de Galicia en los que se aisló *N. caninum*, comprobando que las lesiones eran similares a las descritas en la neosporosis bovina; así mismo, estos autores señalaron que la transmisión vertical era la responsable del mantenimiento de la infección en el rebaños. Sin embargo, diversos autores (Teshale *et al.*, 2007; Al Majadi *et al.*, 2008; Varaschin *et al.*, 2011; García *et al.*, 2012, Gazzonis *et al.*, 2015) señalaron que, al igual que sucede en el ovino, la principal fuente de infección para las cabras adultas consiste en la ingestión de ooquistes esporulados presentes en el ambiente, que

son eliminados por los perros y los gatos, fundamentalmente por los más jóvenes (Dubey y Frenkel, 1974; Dubey y Beattie, 1988), lo que indicaría que la vía de transmisión es básicamente horizontal. En este sentido, en cabras de Galicia, Díaz-Cao (2016) observó un porcentaje de animales seropositivos significativamente más elevado en los mayores de 16 meses (39%) que en los de menor edad (18%). Como se puede deducir de lo anteriormente señalado, la vía de transmisión predominante de ambos protozoos en el ganado caprino es todavía un aspecto controvertido, siendo necesarios estudios más amplios para determinarla con exactitud.

Respecto a la influencia de la **raza** sobre la seropositividad a *T. gondii* y a *N. caninum*, las mayores seroprevalencias se observaron en los cruces (Tabla 3.3.2.), pero mediante el análisis multivariante estas diferencias no fueron significativas. Aunque no existen investigaciones previas sobre el efecto de la raza sobre la seropositividad a este protozoo, algunos autores han señalado menores seroprevalencias de *N. caninum* en cabras rústicas o autóctonas que en las procedentes de cruces (Nasir *et al.*, 2012). En este sentido, Pérez-Creo *et al.* (2016 b) comprobaron que los animales de raza “Cabra Galega” tenían una seroprevalencia de *Fasciola hepatica* significativamente inferior que las procedentes de cruces.

En relación con el **tamaño del rebaño** y el **régimen de explotación**, se observó que la seroprevalencia de *T. gondii* era superior en los rebaños de mediano tamaño y en los que se explotaban en régimen semiextensivo, aunque las diferencias no fueron significativas. Varios autores señalan que la salida de los animales al pasto constituye un mayor riesgo de contactar con ooquistes del parásito y con los HD (Al-Majali *et al.*, 2008; Araujo *et al.*, 2008; Czopowicz *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2013; Gazzonis *et al.*, 2016). Las cabras que se manejan en extensivo suelen mantenerse en extensos pastizales localizados lejos de las zonas residenciales y las granjas, y con una baja densidad de animales en el pasto; todo ello condiciona que la posibilidad de que las cabras contacten con los hospedadores definitivos de estos protozoos (animales de compañía), y por tanto, el riesgo de exposición al parásito, sea más reducido (Liu *et al.*, 2014).

En este estudio no se observó asociación entre el **sexo** de los animales y la seroprevalencia de anticuerpos frente a ambos protozoos, lo que indica que tanto *T. gondii* como *N. caninum* no muestran preferencia por machos o hembras, lo que coincide con otras investigaciones (Silva *et al.*, 2003; Figliuolo *et al.*, 2004; Faria *et al.*, 2007). De hecho, la mayoría de las investigaciones que han hallado diferencias significativas en el porcentaje de animales seropositivos al considerar el sexo, lo relacionan fundamentalmente con un diferente manejo de ambos géneros (Teshale *et al.*, 2007; Arraes-Santos *et al.*, 2016).







## **4 CONCLUSIONES**





## 4. Conclusiones

De los estudios realizados en esta Tesis Doctoral se han llegado a las siguientes conclusiones:

1ª. Las infecciones parasitarias que afectan con mayor frecuencia al aparato digestivo de las cabras son las producidas por coccidios eiméridos y por nematodos gastrointestinales, siendo menos prevalentes las ocasionadas por cestodos y trematodos.

2ª. Los principales factores de riesgo que influyen sobre las cifras medias de eliminación de ooquistes de *Eimeria* son el tamaño de los rebaños, la ausencia de ovinos en la granja y la zona geográfica en la que pastan las cabras. Además, los animales más jóvenes mostraron los mayores recuentos de ooquistes por gramo, probablemente debido a la ausencia de una respuesta inmunitaria eficaz frente a la primoinfección.

3ª. En los rebaños de cabras de Galicia se identificaron 8 especies de *Eimeria*, siendo las más frecuentes y patógenas en ganado caprino *E. arloingi* y *E. ninakohlyakimovae*, con el riesgo que eso supone para la aparición de coccidiosis clínica en las explotaciones.

4ª. Los factores asociados con la prevalencia de *Moniezia* son las precipitaciones registradas y la raza, siendo menos frecuentes estas infecciones en los cruces. Además, se constató que el área geográfica influye sobre la eliminación de huevos de *Moniezia*, siendo los recuentos significativamente superiores en los animales que pastaban en la zona costa-centro.

5ª. Las infecciones por trematodos hepáticos (*F. hepatica* y *D. dendriticum*) y ruminales (anfistomas) en ganado caprino de Galicia son muy poco frecuentes. No obstante, es la primera vez que se cita la presencia de anfistomas y de *D. dendriticum* en cabras explotadas en esta Comunidad.

6ª. La prevalencia y la eliminación de huevos de estrongídeos (*Trichostrongylus*, *Teladorsagia* y *Haemonchus*) fueron superiores a las de otros nematodos gastrointestinales como *Trichuris* y *Nematodirus*. Los recuentos de huevos fueron significativamente más elevados en animales de explotaciones localizadas a baja altitud y en la zona costa-centro, donde las condiciones ambientales son más adecuadas para el desarrollo y supervivencia de las fases larvarias; otro factor asociado a los anteriores fue el manejo de las cabras en régimen extensivo, lo que favorece la ingestión de las larvas infectantes. Asimismo, las cabras de granjas no incluidas en ADSG mostraron una mayor eliminación de huevos de estrongídeos, probablemente debido a la ausencia de un programa de control parasitario.

7ª. Las infecciones que afectan al aparato respiratorio de las cabras están originadas principalmente por nematodos de la Familia Protostrongylidae, siendo poco importantes las de *Dictyocaulus filaria*. En los protostrongídeos, *Muellerius capillaris* fue la especie más prevalente, mientras que la presencia y eliminación larvaria de *Neostongylus linearis* y *Cystocaulus ocreatus* fueron escasas.

8ª. Los factores de riesgo que influyen sobre la eliminación de las larvas de los protostrongídeos son la edad, la raza, el sistema de manejo y la altitud de la zona en la que pastan las cabras. Es la primera vez que se constata que existe una sinergia entre las infecciones producidas por los nematodos gastrointestinales y los protostrongídeos, comprobándose que ambas se potencian.

9ª. *Toxoplasma gondii* es un parásito muy prevalente y de amplia distribución en los rebaños de ganado caprino de Galicia. Sobre la seroprevalencia a *T. gondii* influye significativamente el área geográfica, la presencia de ovejas en la granja y la pertenencia a una ADSG.

10ª. *Neospora caninum*, por el contrario, es poco frecuente en las cabras de Galicia. La seroprevalencia a *N. caninum* está asociada significativamente a la de *T. gondii* y viceversa. Además sobre la seropositividad a *N. caninum* influye la temperatura de la zona donde pastan

las cabras; las áreas con temperaturas más cálidas presentan unas condiciones más adecuadas para la evolución y supervivencia de las fases externas del ciclo de este protozoo.

11ª. El sexo no constituye un factor de riesgo en ninguna de las infecciones parasitarias estudiadas y la edad sólo influyó sobre la eliminación de coccidios eiméricos y de protostronglidos.







## **5 RESUMEN**



## 5. Resumen

La importancia del sector ganadero en Galicia ha variado en las últimas décadas, propiciando un incremento de las explotaciones de ganado caprino y ovino en pastoreo, aunque su número todavía sigue siendo muy inferior al del bovino. En la Comunidad gallega predominan las razas de cabra de producción cárnica que se mantienen en régimen extensivo o semiextensivo, en la mayoría de las ocasiones de forma conjunta con el ganado ovino. Debido a que las condiciones edafoclimáticas de Galicia son idóneas para el desarrollo de la mayoría de los ciclos de los parásitos que afectan a los rumiantes, en esta Tesis nos planteamos conocer las principales infecciones que afectan al aparato digestivo (protozoos eiméricos, cestodos, trematodos y nematodos gastrointestinales), al respiratorio (nematodos broncopulmonares) y al reproductor (*Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*). Además de determinar la prevalencia y las cifras medias de eliminación de los diferentes parásitos objeto de este estudio, nos proponemos analizar la posible influencia que sobre estos parámetros tienen algunos factores intrínsecos y extrínsecos. Para ello, al tiempo que se realizaba la toma de muestras, se efectuó una encuesta epidemiológica al propietario de la explotación que se obtuvieron los datos de edad (en meses), sexo, raza (cruces, aptitud láctea, raza “Cabra Galega”), sistema de manejo (extensivo, semiextensivo, intensivo), tamaño del rebaño, convivencia o no con ovejas, realización de desparasitaciones e integración en una ADSG. Así mismo, se tuvo en cuenta la temperatura media, la precipitación y la altitud de las áreas de pastoreo, así como la zona geográfica (costa-centro y montaña). El muestreo se realizó de forma que los rebaños incluidos finalmente en el estudio representaran a todas las zonas agroganaderas de Galicia.

Para su mejor comprensión, el trabajo que constituye esta Tesis Doctoral se ha dividido en 3 capítulos o estudios:



Para establecer la **prevalencia y las cifras de eliminación de los diferentes parásitos que afectan al aparato digestivo de las cabras, así como la posible influencia de los diferentes factores considerados (ESTUDIO I)**, se tomaron muestras de heces directamente del recto de los animales, que se analizaron por duplicado empleando las técnicas de flotación ( $n= 432$ ) y sedimentación ( $n= 381$ ). Se utilizó la técnica de flotación en solución salina saturada para cuantificar, por gramo de heces, los ooquistes (opg) de coccidios (*Eimeria*), los huevos (hpg) de cestodos (*Moniezia*) y de nematodos gastrointestinales (*Trichuris*, *Nematodirus* y estrongílicos), mientras que con la sedimentación se identificaron y cuantificaron los huevos de trematodos (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum* y anfitomas). Para poder identificar las especies de *Eimeria*, los ooquistes se esporularon según el protocolo descrito por Hendrix (1998) y para la identificación específica nos basamos en las claves de Taylor *et al.* (2007). La identificación de los huevos de *Moniezia*, de *F. hepatica*, *D. dendriticum* y anfitomas se basó en su morfología. En el caso de los nematodos gastrointestinales, se identificaron los huevos de los géneros *Trichuris* y *Nematodirus*; mientras que, para identificar el resto de los géneros de estrongílicos se realizaron coprocultivos y nos basamos en las características morfológicas de las larvas de tercer estadio.

Respecto a las infecciones producidas por **coccidios**, la prevalencia de infección por ooquistes de *Eimeria* fue del 97,0% (IC95% 94,9-98,4), siendo las cifras medias de ooquistes por gramo de heces (opg) de 2.837,0 (D.E.= 4.566,9). Se identificaron 8 especies de *Eimeria*, siendo las más frecuentes *E. arloingi* (51%), *E. ninakohlyakimovae* (17%) y *E. alijevi* (12%), mientras que el número de ooquistes identificados de *E. aspheronica*, *E. christenseni*, *E. caprina*, *E. hirci* y *E. jolchijevi* fue muy reducido. En ningún rebaño se observaron infecciones por una sola especie de *Eimeria*, siendo las asociaciones más frecuentes las ocasionadas por más de 5 especies. Debido a que el porcentaje de animales que eliminaban ooquistes fue muy elevado y similar en todos los grupos, no se pudo realizar el análisis de factores de riesgo sobre la prevalencia. Por el contrario, se constató que la edad de los animales ( $F= 3,188$ ;  $p= 0,024$ ), el tamaño de los rebaños ( $F= 7,536$ ;  $p< 0,001$ ), la ausencia de ovejas ( $F= 42,485$ ;  $p< 0,001$ ), así como la zona en la que pastaban ( $F= 36,026$ ;  $p< 0,001$ ) influían significativamente sobre la intensidad de eliminación de ooquistes.

En relación con las infecciones producidas por **cestodos**, se observó que el 15,47% (IC 95% 12,27-19,31) de las cabras eliminaban huevos de *Moniezia*, siendo las cifras medias de 285 hpg (D.E. 568,6). Mediante una regresión logística mixta se constató que las cabras de

“Raza Galega” ( $Z = 3,470$ ;  $p < 0,001$ ), de aptitud lechera ( $Z = 3,040$ ;  $p = 0,002$ ) y que pastaban en zonas con precipitaciones más elevadas ( $Z = -1,966$ ;  $p = 0,049$ ) presentaban mayores prevalencias. Además, con ANOVA multifactorial se comprobó que sobre las cifras medias de eliminación de hpg de *Moniezia*, influía la zona geográfica en la que pastaban las cabras ( $F = 5,848$ ;  $p = 0,019$ ).

Respecto a las infecciones producidas por **trematodos**, el porcentaje de cabras en las que se halló huevos de trematodos hepáticos (*F. hepatica* y *D. dendriticum*) y ruminales (anfistomas), así como las cifras medias de eliminación, fueron muy bajas, por lo que no fue posible realizar el análisis de riesgos. La prevalencia de infección de *F. hepatica* fue del 1,31% (IC95% 0,48-3,21) y las cifras medias de eliminación de huevos por gramo de heces fueron bajas ( $\bar{X} = 9$ ; D.E. 6,7). Así mismo, sólo el 0,79% (IC 95% 0,20-2,48) de las cabras eliminaron huevos de **anfistomas**, aunque las cifras medias ( $\bar{X} = 63$  D.E. 91,3) fueron ligeramente superiores a las observadas para *F. hepatica*, siendo la primera vez que se han observado huevos de anfistomas en ganado caprino en Galicia. Únicamente una cabra eliminó cifras muy bajas de huevos de *D. dendriticum* (0,26%; IC = 0,01-1,69).

En relación con las infecciones ocasionadas por **nematodos gastrointestinales**, la prevalencia de infección por *Trichuris* fue del 10,39% (IC95% 7,76-13,7) y se observaron cifras medias de huevos por gramo de heces entre bajas y moderadas ( $\bar{X} = 122$ ; D.E. 109,8). Los resultados de la regresión logística mixta permitieron comprobar que los factores que influían significativamente sobre la prevalencia de infección eran el sexo y la raza, siendo más reducidos en las hembras y los cruces. Debido a que sólo se pudo hacer el recuento de huevos de *Trichuris* en un escaso número de cabras no se pudo realizar el correspondiente análisis de riesgo sobre la intensidad de eliminación de huevos.

En las heces del 14,15% (IC95% 11,10-17,86) de las cabras se observaron huevos de *Nematodirus*, siendo las cifras medias de eliminación bajas (64; D.E. 30,1). El análisis de riesgos permitió identificar cuatro factores asociados con la prevalencia; así, los animales de la montaña, los que se desparasitan, los que no están en ADSG y los positivos a estrongídeos presentaron prevalencias significativamente superiores al resto. Como el número de animales que eliminaron huevos de este nematodo fue bajo, no se pudo realizar el análisis de factores de riesgo sobre la intensidad de eliminación de huevos.

El 83,59% (IC95% 79,75-86,85%) de las cabras eliminaron huevos de **estrongídeos**, con cifras medias de eliminación de huevos por gramo de heces que pueden considerarse como

moderadas (529; D.E. 1097,9). Tras realizar los correspondientes coprocultivos se comprobó que *Trichostrongylus* (74,5%) era el género significativamente más frecuente, hallándose en menor proporción *Teladorsagia* (24%) y *Haemonchus* (1,5%). Debido a que el porcentaje de animales que eliminaron huevos de estos nematodos fue muy elevado en todos los grupos, no se encontraron diferencias al considerar los diversos factores de riesgo. No obstante, se constató que las cabras que eliminaban larvas de protostrongílidos presentaban prevalencias superiores de infección por estos nematodos gastrointestinales ( $Z= 2,549$ ;  $p= 0,011$ ), siendo el riesgo de infección 4,4 veces superior que en las que no estaban parasitadas con nematodos broncopulmonares. Mediante ANOVA multifactorial se comprobó que las cabras pertenecientes a una ADSG ( $F= 11,355$ ;  $p< 0,001$ ) y manejadas en extensivo ( $F= 16,136$ ;  $p< 0,001$ ), así como aquellas de rebaños localizados en la costa-centro ( $F= 12,046$ ;  $p< 0,001$ ) y en pastos de menor altitud ( $F= 3,915$ ;  $p= 0,049$ ) presentaban cifras de eliminación significativamente más elevadas.

En el **ESTUDIO II**, se determinó la **prevalencia e intensidad de eliminación de los nematodos broncopulmonares y la posible influencia de los factores de riesgo analizados**. Con objeto de cuantificar las larvas por gramo de heces (lpg) de los nematodos de la Familia Dictyocaulidae y Protostrongylidae se analizaron 10 gramos de heces procedentes de 380 cabras. Las muestras se examinaron por duplicado empleando la técnica de migración larvaria. Las larvas obtenidas se concentraron en un volumen de 2 ml y se contaron en una cámara de Favati. Bajo microscopio (40 x) y, basándonos en sus características morfológicas, se identificaron las especies *Dictyocaulus filaria*, *Cystocaulus ocreatus*, *Muellerius capillaris* y *Neostrongylus linearis*.

La prevalencia y las cifras medias de eliminación fueron netamente inferiores para *D. filaria* (2,43%;  $\bar{x}= 2,6$ ; D.E. 4,75) que para los protostrongílidos (90,0%;  $\bar{x}= 172,0$ ; D.E. 460,5); en todos los animales positivos se identificó *M. capillaris*, y en menor proporción *N. linearis* (4,5%) y *C. ocreatus* (0,3%). En las infecciones por *D. filaria* no fue posible establecer la influencia de las diferentes variables sobre la prevalencia y recuentos de larvas debido al escaso número (9) de cabras que eliminaron larvas de este nematodo. Así mismo, y debido a que el porcentaje de animales que eliminaban larvas de protostrongílidos fue muy elevado y similar entre los diferentes grupos, no se pudo realizar el análisis de riesgos para la prevalencia. Por el contrario, mediante ANOVA multifactorial, se constató que los factores

que influían sobre las cifras medias de eliminación de larvas de Protostrongylidae eran la edad ( $F= 4,158$ ;  $p= 0,006$ ), la raza ( $F= 28,895$ ;  $p< 0,001$ ), el sistema de manejo ( $F= 7,199$ ;  $p= 0,008$ ) y la altitud de la zona ( $F= 23,910$ ;  $p< 0,001$ ). En este sentido, los mayores recuentos de larvas de protostrongílidos se observaron en las cabras de mayor edad, que pastan en altitudes superiores a 490 m, en condiciones de manejo extensivo, de “Raza Galega” o cruces. Además, se constató la infección por nematodos gastrointestinales favorece la prevalencia y la eliminación de larvas de protostrongílidos ( $F= 18,540$ ;  $p< 0,001$ ).

En el **ESTUDIO III**, se analizó la posible **influencia de los factores de riesgo sobre la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum***, que son los principales protozoos parásitos que afectan al aparato reproductor de las cabras. Mediante punción en la vena yugular, se extrajeron muestras de sangre de 682 cabras. Para la detección de anticuerpos frente a estos 2 protozoos se utilizaron kits comerciales; para *T. gondii* se empleó el test de aglutinación directa (DAT) Toxo-Screen DA<sup>®</sup> (BioMerieux<sup>®</sup>, Lyon, Francia) que permite la detección exclusiva de las IgG anti-*Toxoplasma*. Para detectar anticuerpos específicos frente a *N. caninum* se utilizó una técnica ELISA de competición (cELISA-VMRD, VMRD, Pullman, EE.UU.) de acuerdo con las indicaciones del fabricante. La seropositividad se analizó mediante una regresión logística de efectos mixtos. Como variable dependiente se tomó la seropositividad a *T. gondii* o *N. caninum*, y el rebaño se introdujo como factor aleatorio para contrarrestar su efecto sobre el resto de factores.

La seroprevalencia real de ***T. gondii*** fue elevada (46,2%; IC95% 42,4-50,0) y también lo fue a nivel de rebaño (39/54; 72,2%); la seroprevalencia real intra-rebaño fue del 52,9% (5,9%-100%). En el caso de *N. caninum* se observó que tanto la seroprevalencia real individual (7,2%; IC95% 5,4-9,5), como la de rebaño (19/54; 35,2%) y la intra-rebaño (11,2%; min 2,7% - máx. 100%) eran sensiblemente inferiores a las observadas para *T. gondii*.

Los resultados de la regresión logística de efectos mixtos indicaron que la seroprevalencia de *T. gondii* está asociada significativamente con el área geográfica, la presencia de ovejas en la granja, pertenencia a una ADSG y la seropositividad a *N. caninum*. Así, las cabras de la zona costa-centro mostraron una probabilidad de ser seropositivas 10,8 (IC95% 3,2-36,5) veces más elevada que aquellas de la zona de montaña. Además, el riesgo de ser seropositivo fue 5,1 (IC95% 1,6-16,5) veces más elevado en rebaños que incluían ovejas y 5,1 (IC95% 1,1-23,9) en animales pertenecientes a granjas en ADSG. Para este

último protozoo, el análisis multivariante indicó que la temperatura y la seropositividad a *T. gondii* estaban asociados de forma significativa con la exposición a *N. caninum*. En este caso, la probabilidad de ser seropositivo fue 2,4 (IC95% 1,2-4,9) veces superior en animales localizados en zonas con temperaturas medias inferiores a 10°C, y 17,3 (IC95% 6,1-49,4) veces más en las positivas a *T. gondii*. Así mismo, se constató que la seropositividad a *N. caninum* estaba significativamente asociada con la exposición a *T. gondii* (OR= 17,3) y viceversa (OR= 17,5), constituyendo los factores más determinantes en la probabilidad de exposición a estos protozoos.



## Resumo

A importancia do sector gandeiro en Galicia variou nas últimas décadas, propiciando un incremento das explotacións de gando cabrún e ovino en pastoreo, aínda que o seu número segue sendo moi inferior ao do bovino. Na Comunidade galega predominan as cabras de razas de produción cárnica que se manteñen en réxime extensivo ou semiextensivo, na maioría das ocasións de forma conxunta co gando ovino. Debido a que as condicións edafoclimáticas de Galicia son idóneas para o desenvolvemento da maioría dos ciclos dos parasitos que afectan aos ruminantes, nesta Tese propoñémonos coñecer as principais infeccións que afectan ao aparello dixestivo (protozoos eiméridos, cestodos, trematodos e nematodos gastrointestinais), ao respiratorio (nematodos broncopulmonares) e ao reprodutor (*Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*). Ademais de determinar a prevalencia e as cifras medias de eliminación dos diferentes parasitos obxecto deste estudo, propoñémonos analizar a posible influencia que teñen algúns factores intrínsecos e extrínsecos sobre estes parámetros. Para iso, á vez que se realizaba a toma de mostras, efectuouse unha enquisa epidemiolóxica ao propietario da que se obtiveron os datos de idade (en meses), sexo, raza (cruces, aptitude leiteira, raza “Cabra Galega”), sistema de manexo (extensivo, semiextensivo, intensivo), tamaño do rabaño, convivencia ou non con ovellas, realización de desparasitacións e integración nunha ADSG. Así mesmo, tívose en conta a temperatura media, a precipitación e a altitude das áreas de pastoreo, así como a zona xeográfica (costa-centro e montaña). A mostraxe realizouse de forma que os rabaños incluídos finalmente no estudo representasen a todas as zonas agro-gandeiras de Galicia.

Para a súa mellor comprensión, o traballo que constitúe esta Tese Doutoral dividiuse en 3 capítulos ou estudos:

Para establecer **a prevalencia e as cifras de eliminación dos diferentes parasito que afectan ao aparello dixestivo das cabras, así como a posible influencia dos diferentes**



**factores considerados (ESTUDO I)**, tomáronse mostras de feces directamente do recto dos animais, que se analizaron por duplicado empregando as técnicas de flotación ( $n= 432$ ) e sedimentación ( $n= 381$ ). Utilizouse a técnica de flotación en solución salina saturada para cuantificar, por gramo de feces, os ooquistes (opg) de coccidios (*Eimeria*), os ovos de cestodos (*Moniezia*) e de nematodos gastrointestinais (*Trichuris*, *Nematodirus* e estronxídeos), mentres que coa sedimentación identificáronse e cuantificaron os ovos de trematodos (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum* e anfishomas). Para poder identificar as especies de *Eimeria*, os ooquistes esporuláronse segundo o protocolo descrito por Hendrix (1998) e para a identificación específica baseámonos nas claves de Taylor *et al.* (2007). A identificación dos ovos de *Moniezia*, de *F. hepatica*, *D. dendriticum* e anfishomas baseouse na súa morfoloxía. No caso dos nematodos gastrointestinais, identificáronse ovos dos xéneros *Trichuris* e *Nematodirus*; mentres que para o resto dos xéneros de estronxídeos realizáronse coprocultivos, baseándose nas características morfolóxicas das larvas de terceiro estadio para identificalas.

Respecto ás infeccións producidas por coccidios, a prevalencia de infección por ooquistes de *Eimeria* foi do 97,0% (IC95% 94,9-98,4), sendo as cifras medias de ooquistes por gramo de feces de 2.837,0 (D.E.= 4.566,9). Identificáronse 8 especies de *Eimeria*, sendo as máis frecuentes *E. arloingi* (51%), *E. ninakohlyakimovae* (17%) e *E. alijevi* (12%), mentres que o número de ooquistes identificados de *E. aspheronica*, *E. christenseni*, *E. caprina*, *E. hirci* e *E. jolchijevi* foi moi reducido. En ningún rabaño se observaron infeccións por unha soa especie de *Eimeria*, sendo as asociacións máis frecuentes as ocasionadas por máis de 5 especies. Debido a que a porcentaxe de animais que eliminaban ooquistes foi moi elevada e similar en todos os grupos, non se puido realizar a análise de factores de risco sobre a prevalencia. Pola contra, constatouse que a idade dos animais ( $F= 3,188$ ;  $p= 0,024$ ), o tamaño dos rabaños ( $F= 7,536$ ;  $p< 0,001$ ), a ausencia de ovellas ( $F= 42,485$ ;  $p< 0,001$ ), así como a zona na que pastaban ( $F= 36,026$ ;  $p< 0,001$ ) influían significativamente sobre a intensidade de eliminación de ooquistes.

En relación coas infeccións producidas por cestodos, observouse que o 15,47% (IC 95% 12,27-19,31) das cabras eliminaban ovos de *Moniezia*, sendo as cifras medias de 285 opg (D.E. 568,6). Mediante unha regresión loxística mixta constatouse que as cabras de “Raza Galega” ( $Z= 3,470$ ;  $p< 0,001$ ), de aptitude leiteira ( $Z= 3,040$ ;  $p= 0,002$ ) e que pastaban en zonas con precipitacións máis elevadas ( $Z= -1,966$ ;  $p= 0,049$ ) presentaban maiores



prevalencias. Ademais, con ANOVA multifactorial constatouse que sobre as cifras medias de eliminación de opg de *Moniezia*, influía a zona xeográfica na que pastaban as cabras ( $F=5,848$ ;  $p=0,019$ ).

Respecto das infeccións producidas por trematodos, a porcentaxe de cabras nas que se achou ovos de trematodos hepáticos (*F. hepatica* e *D. dendriticum*) e ruminales (anfistomas), así como as cifras medias de eliminación, foron moi baixas, polo que non foi posible realizar a análise de riscos. A prevalencia de infección de *F. hepatica* foi do 1,31% (IC95% 0,48-3,21) e as cifras medias de eliminación de ovos por gramo de feces foron baixas ( $\bar{x}=9$ ; D.E. 6,7). Así mesmo, só o 0,79% (IC 95% 0,20-2,48) das cabras eliminaron ovos de anfistomas, aínda que as cifras medias ( $\bar{x}=63$  D.E. 91,3) foron lixeiramente superiores ás observadas para *F. hepatica*, sendo a primeira vez que se observaron ovos de anfistomas no gando caprino en Galicia. Unicamente unha cabra eliminou cifras moi baixas de ovos de *D. dendriticum* (0,26%; IC= 0,01-1,69).

En relación coas infeccións ocasionadas por nematodos gastrointestinais, a prevalencia de infección por *Trichuris* foi do 10,39% (IC95% 7,76-13,7) e observáronse cifras medias de ovos por gramo de feces entre baixas e moderadas ( $\bar{x}=122$ ; D.E. 109,8). Os resultados da regresión loxística mixta permitiron comprobar que os factores que influían significativamente sobre a prevalencia de infección eran o sexo e a raza, sendo máis reducidos nas femias e os cruces. Debido a que só se puido facer o recuento de ovos de *Trichuris* nun escaso número de cabras non se puido realizar a correspondente análise de risco sobre a intensidade de eliminación de ovos.

Nas feces do 14,15% (IC95% 11,10-17,86) das cabras observáronse ovos de *Nematodirus*, sendo as cifras medias de eliminación baixas (64; D.E. 30,1). A análise de riscos permitiu identificar catro factores asociados coa prevalencia; así, os animais da montaña, os que se desparasitan, os que non están en ADSG e os positivos a estronxídeos presentaron prevalencias significativamente superiores ao resto. Debido a que o número de animais que eliminaron ovos deste nematodo foi baixo, non se puido realizar a análise de factores de risco sobre a intensidade de eliminación de ovos.

O 83,59% (IC95% 79,75-86,85%) das cabras eliminaron ovos de estronxídeos, con cifras medias de eliminación de opg que poden considerarse como moderadas (529; D.E. 1.097,9). Tras realizar os correspondentes coprocultivos comprobouse que *Trichostrongylus* (74,5%) era o xénero significativamente máis frecuente, achándose en menor proporción *Teladorsagia*

(24%) e *Haemonchus* (1,5%). Debido a que a porcentaxe de animais que eliminaron ovos destes nematodos foi moi elevada en todos os grupos, non se atoparon diferenzas ao considerar os diversos factores de risco. No entanto, constatouse que as cabras que eliminaban larvas de protostrongílidos presentaban prevalencias de infección por estes nematodos gastrointestinais superiores ao resto ( $Z= 2,549$ ;  $p= 0,011$ ), sendo o risco de infección 4,4 veces maior que nos non estaban parasitados con nematodos broncopulmonares. Mediante ANOVA multifactorial comprobouse que as cabras pertencentes a unha ADSG ( $F= 11,355$ ;  $p< 0,001$ ) e manexadas en extensivo ( $F= 16,136$ ;  $p< 0,001$ ), así como aquelas de rabaños localizados na costa-centro ( $F= 12,046$ ;  $p< 0,001$ ) e en pastos de menor altitude ( $F= 3,915$ ;  $p= 0,049$ ), presentaban cifras de eliminación significativamente máis elevadas.

**No ESTUDO II, determinouse a prevalencia e intensidade de eliminación dos nematodos broncopulmonares e a posible influencia dos factores de risco considerados.**

Con obxecto de cuantificar as larvas dos nematodos da Familia Dictyocaulidae e Protostrongylidae analizáronse 10 gramos de feces procedentes de 380 cabras. As mostras analizáronse por duplicado empregando a técnica de migración larvaria. As larvas obtidas concentráronse nun volume de 2 ml e contáronse nunha cámara de Favati. Baixo microscopio e baseándonos nas súas características morfolóxicas, identificáronse as especies *Dictyocaulus filaria*, *Cystocaulus ocreatus*, *Muellerius capillaris* e *Neostrongylus linearis*.

A prevalencia e as cifras medias de eliminación foron netamente inferiores para *D. filaria* (2,43%;  $\bar{X}=2,6$ ; D.E. 4,75) que para os protostrongílidos (90,0%;  $\bar{X}=172,0$ ; D.E. 460,5); en tódolos animais positivos identificouse *M. capillaris*, e en menor proporción *N. linearis* (4,5%) e *C. ocreatus* (0,3%). Nas infeccións por *D. filaria* non foi posible establecer a influencia das diferentes variables sobre a prevalencia e recontos de larvas debido ao escaso número (9) de cabras que eliminaron larvas deste nematodo. Así mesmo, e debido a que a porcentaxe de animais que eliminaban larvas de protostrongílidos foi moi elevado e similar entre os diferentes grupos, non se puido a análise de riscos para a prevalencia. Pola contra, mediante ANOVA multifactorial, constatouse que os factores que influían sobre as cifras medias de eliminación de larvas de Protostrongylidae eran a idade ( $F= 4,158$ ;  $p= 0,006$ ), a raza ( $F= 28,895$ ;  $p< 0,001$ ), o sistema de manexo ( $F= 7,199$ ;  $p= 0,008$ ) e a altitude da zona ( $F= 23,910$ ;  $p< 0,001$ ). Neste sentido, os maiores recontos de larvas de protostrongílidos observáronse nas cabras de maior idade, que pastan en altitudes superiores a 490 m. en

condicións de manexo extensivo, de “Raza Galega” ou cruces. Ademais, constatouse que infección por nematodos gastrointestinais favorece á prevalencia e a eliminación de larvas de protostronxídeos ( $F= 18,540$ ;  $p< 0,001$ ).

**No ESTUDO III, analizouse a posible influencia dos factores de risco sobre a seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, que son os principais protozoos parasitos que afectan ao aparello reprodutor das cabras.** Mediante punción na vena xugular, extraéronse mostras de sangue de 682 cabras. Para a detección de anticorpos fronte a estes 2 protozoos empregáronse kits comerciais; para *T. gondii* empregouse o test de aglutinación directa (DAT) Toxo-Screen DÁ® (BioMerieux®, Lyon, Francia) que permite a detección exclusiva das IgG anti-*Toxoplasma*. Para detectar anticorpos específicos fronte a *Neospora caninum* empregouse unha técnica ELISA de competición (cELISA-VMRD, VMRD, Pullman, EE.UU.) de acordo coas indicacións do fabricante. A seropositividade analizouse mediante unha regresión loxística de efectos mixtos. Como variable dependente tomouse a seropositividade a *T. gondii* ou *N. caninum*, e o rabaño introduciuse como factor aleatorio para contrarrestar o seu efecto sobre o resto de factores.

A seroprevalencia real de *T. gondii* foi elevada (46,2%; IC95% 42,4-50,0) e tamén o foi a nivel de rabaño (39/54; 72,2%); a seroprevalencia real intra-rabaño foi do 52,9% (5,9%-100%). No caso de *N. caninum* observouse que tanto a seroprevalencia real individual (7,2%; IC95% 5,4-9,5), como a de rabaño (19/54; 35,2%) e a intra-rabaño (11,2%; min 2,7% - máx. 100%) eran sensiblemente inferiores ás observadas para *T. gondii*. Os resultados da regresión loxística de efectos mixtos indicaron que a seroprevalencia de *T. gondii* está asociada significativamente co área xeográfica, a presenza de ovellas na granxa, pertenza a unha ADSG e a seropositividade a *N. caninum*. Así, as cabras da zona costa-centro mostraron unha probabilidade de ser seropositivas 10,8 (IC95% 3,2-36,5) veces máis elevada que aquelas da zona de montaña. Ademais, o risco de ser seropositivo foi 5,1 (IC95% 1,6-16,5) veces máis elevado en rabaños que incluían ovellas e 5,1 (IC95% 1,1-23,9) en animais pertencentes a granxas en ADSG. Para este último protozoo, a análise multivariante indicou que a temperatura e a seropositividade a *T. gondii* estaban asociados de forma significativa coa exposición a *N. caninum*. Neste caso, a probabilidade de ser seropositivo foi 2,4 (IC95% 1,2-4,9) veces superior en animais localizados en zonas con temperaturas medias inferiores a 10°C, e 17,3 (IC95% 6,1-49,4) veces máis nas positivas a *T. gondii*. Así mesmo, constatouse

que a seropositividade a *N. caninum* estaba significativamente asociada coa exposición a *T. gondii* (OR= 17,3) e viceversa (OR= 17,5), constituíndo os factores máis determinantes na probabilidade de exposición a estes protozoos.



## Abstract

The importance of the livestock sector in Galicia has change in the last decades, leading to an increase in the number of goats and sheep reared in pasture, although their census still remains lower than cattle. Meat goat breeds reared in extensive or semi-extensive management systems are the prevailing in the Galicia, mainly sharing farming facilities and pastures with sheep. Because of both soil and climate conditions in Galicia are optimal for the development of the life-cycles of most parasites affecting ruminants, the main aim of this PhD Thesis is to establish the prevalence and intensity of oocyst/larvae/egg elimination of the main infections affecting the digestive (protozoan, cestodes, trematodes and gastrointestinal nematodes), respiratory (bronchopulmonary nematodes) and reproductive (*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*) systems. The possible influence of some intrinsic and extrinsic factors on prevalence and oocyst/larvae/egg shedding was also analysed by means of an epidemiological survey carried out at the sampling time in order to obtain some data as: age, sex, breed (crosses, daily, "Cabra Galega" breed), management system (intensive, semi-extensive, extensive), size of the herd, presence or not of sheep in the herd, deworming and affiliation to an ADSG. Likewise, the average temperature, precipitation and altitude of the grazing areas were also considered, as well as the geographical area (coast-center and mountain). Sampling was performed to ensure that all the herds included in the study represented all the livestock areas of Galicia.

For a better understanding, the work that constitutes this PhD Thesis has been divided in 3 chapters or studies:

**In order to establish the prevalence and intensity of egg/oocyst shedding of the different parasites affecting the digestive tract of the goat as well as the possible influence of the different factors considered (STUDY I)**, faecal samples were taken directly from the rectum of the animals and analysed in duplicate using flotation ( $n= 432$ ) and sedimentation ( $n = 381$ ) techniques. Flotation in saturated saline solution technique was used

to quantify the oocysts of coccidia (*Eimeria*), eggs of cestodes (*Moniezia*) and gastrointestinal nematodes (*Trichuris*, *Nematodirus* and strongylids), while sedimentation was used to identify and quantify the eggs of trematodes (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum* and amphistomes). *Eimeria* oocysts were sporulated according to the protocol described by Hendrix (1998) and specific identification was performed using keys of Taylor *et al.* (2007). Identification of *Moniezia*, *F. hepatica*, *D. dendriticum* and amphistomes eggs was based on their morphology. In the case of gastrointestinal nematodes, *Trichuris* and *Nematodirus* eggs were identified; nevertheless, faecal cultures were made to identify the genera of the other strongylids by means of the morphological characteristics of the third stage larvae.

Regarding to protozoan infections, prevalence of infection by *Eimeria* was 97.0% (95% CI 94.9-98.4), with a mean of oocysts per gram of faeces (opg) of 2,837, 0 (S.D. = 4.566.9). Eight *Eimeria* species were identified being *E. arloingi* (51%), *E. ninakohlyakimovae* (17%) and *E. alijevi* (12%) the most frequent; however the number of identified oocysts of *E. aspheronica*, *E. christenseni*, *E. caprine*, *E. hirci* and *E. jolchijevi* was very low. All *Eimeria* infections were mixed, being the most frequent infections those caused by more than 5 species. Due to the high percentage of animals shedding oocysts the prevalence was similar in all groups, so the analysis of risk factors on prevalence was not performed. In contrast, the age of the animals ( $F = 3.188$ ,  $p = 0.024$ ), the size of the herds ( $F = 7.536$ ,  $p < 0.001$ ), the absence of sheep ( $F = 42.485$ ,  $p < 0.001$ ) and the grazing area ( $F = 36.026$ ;  $p < 0.001$ ) had a significant influence on the oocyst release intensity.

Regarding to cestode infections, it was observed that 15.37% (IC 95% 12,27-19,31) of the goats excreted *Moniezia* eggs, being the average 285 epg (S.D. 568.6). Mixed logistic regression showed that "Cabra Galega" breed ( $Z = 3,470$ ;  $p < 0,001$ ), daily goats ( $Z = 3,040$ ,  $p = 0.002$ ) and grazing in areas with high precipitation ( $Z = 1,966$ ,  $p = 0.049$ ) had higher prevalences. In addition, using the multifactorial ANOVA, it was found that the intensity of *Moniezia* egg excretion was mainly influenced by the geographical area in which the goats grazed ( $F = 5.848$ ,  $p = 0.019$ ).

Regarding to trematode infections, the percentage of goats shedding eggs of hepatic (*F. hepatica* and *D. dendriticum*) or ruminal (amphistomes) trematodes and the mean elimination rates were very low; for these reasons it was not possible to carry out a risk analysis. *F. hepatica* prevalence was 1.31% (95% CI 0.48-3.21) and the mean egg counts were low ( $\bar{X} = 9$ ; S.D., 6,7). Likewise, only 0.79% (IC 95% 0.20-2.48) of the goats were positive to



amphistomes, although the egg counts ( $\bar{x}$  = 63 S.D. 91.3) were slightly higher than those observed in *F. hepatica*, being the first time that amphistome eggs were observed in goats from Galicia. In addition, only one goat shed very low quantity of *D. dendriticum* eggs (0.26%, CI = 0.01-1.69).

With respect to gastrointestinal nematodes infections, *Trichuris* infection prevalence was 10.39% (95% CI 7.76-13.7) and the intensity of egg shedding was low ( $\bar{x}$  = 122, S.D. 109.8). Mixed logistic regression results allowed establishing that both the sex and the breed were the factors significantly influencing the prevalence, which was lower in females and crossbreed. Due to the fact that *Trichuris* eggs could only be counted in a limited number of goats, the corresponding risk analysis on intensity of egg excretion could not be performed. *Nematodirus* eggs were observed in the faeces of the 14.15% (IC95% 11.10-17.86) of the goats, with low egg elimination values (64; S.D. 30.1). Risk analysis allowed the identification of four factors associated with prevalence; thus, animals from mountain, those that were dewormed, those that are not in ADSG and those positive to strongyles showed significant higher prevalences than the rest. Due to the low number of animals excreting eggs from this nematode, analysis of risk factors on egg released intensity could not be performed. In addition, 83.59% (IC95% 79.75-86.85%) of the goats eliminated strongylid eggs, with numbers of egg per gram of faeces that could be considered as moderate (529; E.D 1097.9). *Trichostrongylus* (74.5%) was the most frequent genus whilst *Teladorsagia* (24%) and *Haemonchus* (1.5%) were the lowest. No differences were found when considering the various risk factors because the percentage of animals shedding strongylid eggs was very high in all groups. However, it was found that goats positive to protostrongylids had higher prevalences of infection by strongylids ( $Z = 2,549$ ,  $p = 0.011$ ), with a risk of infection 4.4 times higher than those negative to bronchopulmonary nematodes. The multifactorial ANOVA results allowed to determine that goats belonging to an ADSG ( $F = 11.355$ ;  $p < 0.001$ ) and those reared in extensive management ( $F = 16,136$ ;  $p < 0,001$ ), as well as those located in the coast-center ( $F = 12,046$ ,  $P < 0.001$ ) and in lower pastures ( $F = 3.915$ ,  $p = 0.049$ ), showed a significantly higher elimination.

**In the STUDY II, the prevalence and shedding intensity of bronchopulmonary nematodes as well as the possible influence of the considered risk factors were determined.** In order to detect and quantify the excretion of larvae of Dictyocaulidae and



Protostrongylidae nematodes, 10 grams of faeces were analyzed in 380 goats. Samples were analysed in duplicate using the larval migration technique. The obtained larvae were concentrated to a volume of 2 ml and counted in a Favati chamber. Under the microscope, the species *Dictyocaulus filaria*, *Cystocaulus ocreatus*, *Muellerius capillaris* and *Neoststrongylus linearis* were identified on the basis of their morphological characteristics. The prevalence and larvae shedding were significantly lower for *D. filaria* (2.43%,  $\bar{x} = 2.6$ , DE 4.75) than for prototstrongylids (90.0%,  $\bar{x} = 172.0$ , DE 460 ,5); *M. capillaris* was identified in all positive animals, and *N. linearis* (4.5%) and *C. ocreatus* (0.3%) were identified in a lower proportion of goats. The identification of variables influencing the prevalence and larvae shedding of *D. filaria* was not possible to establish due to the small number (9) of goats excreting this nematode. Because of the high percentage of animals positive to protostrongilid and the similar prevalences observed in all groups, the risk analysis for the prevalence was not performed. In contrast, using a multifactorial ANOVA, it was found that the factors influencing the Protostrongylidae larvae shedding were the age ( $F = 4,158$ ,  $p = 0,006$ ), breed ( $F = 28,895$ ,  $p < 0.001$ ), management system ( $F = 7.199$ ,  $p = 0.008$ ) and the altitude of the grazing area ( $F = 23.910$ ,  $p < 0.001$ ). In this regard, the highest protostrongylid larvae counts were observed in the oldest goats, grazing in pastures higher than 490 m, reared in extensive management and in those belonging to "Cabra Galega" breed or crossbreed. In addition, gastrointestinal nematode infection was found to increase the prevalence and prototstrongylid larvae shedding ( $F = 18,540$ ,  $p < 0.001$ ).

**In the STUDY III, the possible influence of risk factors on *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence were analyzed.** Blood samples were collected from 682 goats by jugular venipuncture. Commercial kits were used for detecting antibodies against these two protozoans; *T. gondii* was detected using the Toxo-Screen DA® direct agglutination test (DAT) (BioMerieux®, Lyon, France) that allow the exclusive detection of anti-*Toxoplasma* IgGs. A competition ELISA technique (cELISA-VMRD, VMRD, Pullman, USA) was used to detect specific antibodies against *Neospora caninum*. Both techniques were performed according to the manufacturer's instructions. Seropositivity was analyzed by a logistic regression of mixed effects. Seropositivity to *T. gondii* or *N. caninum* was taken as a dependent variable and the herd was introduced as a random factor to cope with its effect on all other factors.

The true individual *T. gondii* seroprevalence was high (46.2%, 95% CI 42.4-50.0) as well as at herd level (39/54, 72.2%); the intra-herd real seroprevalence was 52.9% (5.9% -100%). Regarding *N. caninum*, it was observed that the individual (7.2%, IC95% 5.4-9.5) the herd (19/54, 35.2%) and intra-herd (11.2%, min 2.7% - max 100%) seroprevalences were significantly lower than those observed for *T. gondii*. The results of the mixed effects logistic regression indicated that *T. gondii* seroprevalence is associated with the geographical area, the presence of sheep in the farm, belonging to AD SG and *N. caninum* seropositivity. Thus, goats from the coast-centre area showed a probability of being seropositive 10.8 (95% CI 3.2-36.5) times higher than those from the mountain area. In addition, the risk of being seropositive was 5.1-fold (IC95% 1.6-16.5) higher in mixed herds, and 5.1 (IC95% 1.1-23.9) in animals from AD SG. Multivariate analysis showed that the temperature and the seropositivity to *T. gondii* are significantly associated to the exposition to *N. caninum*. The probability of being seropositive was 2.4-fold (IC95% 1.2-4.9) higher in animals located in areas with mean temperatures lower than 10°C, and 17.3-fold (IC95% 6.1-49.4) higher in those positive to *T. gondii*.







## **6 BIBLIOGRAFÍA**



## 6. Bibliografía

- Abo-Shehada, M.N., Abo-Farieha, H.A., 2003. Prevalence of *Eimeria* species among goats in northern Jordan. *Small Rumin. Res.* 49: 109-113.
- Abo-Shehada, M.N., Abu-Halaweh, M.M., 2010. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. *Prev. Vet. Med.* 93.: 25-32.
- Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G., Cabaret, J., 1999. Infection of *Lymnaea truncatula* and *Lymnaea glabra* by *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi* in farms of central France. *Vet. Res.* 30: 113-118.
- Afshan, K., Qayyum, M., Rizvi, S.S.R., Mukhtar, M., Mushtaq, M., Miller, J.E., 2013. Serological and coprological comparison for rapid diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in small ruminants from sub-tropical area of Pakistan. *Small Rumin. Res.* 113, 267–272.
- Agyei, A.D., Odonkor, M., Osei-Somuah, A., 2004. Concurrence of *Eimeria* and helminth parasitic infections in West African Dwarf kids in Ghana. *Small Rumin. Res.* 51: 29-35.
- Alasaad, S., Morondo, P., Dacal-Rivas, V., Soriguer, R.C., Granados, J.E., Serrano, E., Zhu, X.Q., Rossi, L., Pérez, J.M., 2009. Bronchopulmonary nematode infection of *Capra pyrenaica* in the Sierra Nevada massif, Spain. *Vet. Parasitol.* 164: 340-343.
- Alemu, S., Leykun, E.G., Ayelet, G., Zeleke, A., 2006. Study on small ruminant lungworms in northeastern Ethiopia. *Vet. Parasitol.* 142: 330-335.
- Al-Majali, A.M., Jawasreh, K.I., Talafha, H.A., Talafha, A.Q., 2008. Neosporosis in sheep and different breeds of goats from Southern Jordan: Prevalence and risk factors analysis. *American J. An. Vet. Sci.* 3: 47-52.
- Almería, S.; Uriarte, J., 1999a. Dynamics of pasture contamination by gastrointestinal nematodes of cattle under extensive management systems: proposal for strategic control. *Vet. Parasitol.* 83: 37-47.
- Almería, S.; Uriarte, J., 1999b. Evolución de la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales y del pesinógeno sérico en bovinos en pastoreo de alta montaña. *Medicina Veterinaria* 16: 340-346.
- Alonso, U., 2016. Prevalencia de protozoos y trematodos en pequeños rumiantes mantenidos en intensivo en Galicia. Trabajo Fin de Grado, Facultade de Veterinaria; Universidade de Santiago de Compostela.

- Alunda, J.M., 2003. Nematodosis gastrointestinales. En: Enfermedades Parasitarias del Ganado Ovino y Caprino. Ed. GEA, Veterinaria Esteve: 39-57.
- Alunda, J.M., Rojo-Vázquez, F.A., 1983. Survival and infectivity of *Dicrocoelium dendriticum* eggs under field conditions in NW Spain. Vet. Parasitol. 13, 245-249.
- Alunda Rodríguez, J.M., Cordero Del Campillo, M., Hidalgo Argüello, M.R., De La Fuente López, C., Cuquerella Ayensa, M., 1996. Coccidiosis. Ovis, 45.
- Álvarez Feijóo, A., 2003. Epidemiología de parasitosis gastrointestinales ovinas en la provincia de Lugo. Memoria de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Álvarez-Sánchez, M.A.; Mainar-Jaime, R.C.; Monteagudo-Rodríguez, M.; Pérez-García, J.; Martín-Gómez, S.; Lithg-Pereira, P.; Rojo-Vázquez, F.A., 2001a. Prevalencia de algunas infecciones parasitarias en pequeños rumiantes de la provincia de León. Acta Parasitológica Portuguesa, 8: 154.
- Andrade, G.D.S., Bruhn, F.R.P., Rocha, C.M.B.M., de Sá Guimarães, A., Gouveia, A.M.G., Guimarães, A.M., 2013. Seroprevalence for *Neospora caninum* in goats of Minas Gerais state, Brazil. Res. Vet. Sci. 94: 584-586.
- Aparicio, J., Cour, I., Saunad, V.M., Sopena, A., 1972. Estudio sobre la toxoplasmosis. La infección entre animales de consumo. Encuestas serológicas en Madrid mediante reacción de inmunofluorescencia. Med. Trop. (Madr). 48, 11-23.
- Arene F.O. 1984: The prevalence and public health significance in of *Toxoplasma gondii* in indigenous meat animals in Niger Delta. Tropenmed. Parasitol. 35: 133-135.
- Arias, M.S., Suárez, J.L., Hillyer, G.V., Francisco, I., Calvo, E., Sánchez-Andrade, R., Díaz, P., Francisco, R., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Paz-Silva, A., 2009. A recombinant-based ELISA evaluating the efficacy of netobimin and albendazole in ruminants with naturally acquired fascioliasis. Vet. J. 182: 73-78.
- Arias, M., Lomba, C., Dacal, V., Vázquez, L., Pedreira, J., Francisco, I., Piñeiro, P., Cazapal-Monteiro, C., Suárez, J.L., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., 2011. Prevalence of mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. Vet. Rec. 168: 408.
- Arraes-Santos, A.I., Araújo, A.C., Guimarães, M.F., Santos, J.R., Pena, H.F.J., Gennari, S.M., Azevedo, S.S., Labruna, M.B., Horta, M.C., 2016. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in domestic mammals from two distinct regions in the semi-arid region of Northeastern Brazil. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports 5: 14-18.
- Asanji, M.F., Williams, M.O., 1987. Variables affecting population dynamics of gastrointestinal helminth parasites of small farm ruminants in Sierra Leone. Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr. 35: 308-313.
- Balicka-Ramisz, A., 1999. Studies on coccidiosis in goats in Poland. Vet. Parasitol. 81: 347-349.
- Balicka-Ramisz, A., Ramisz, A., Vovk, S., Snitynskyj, V., 2012. Prevalence of coccidia infection in goats in Western Pomerania (Poland) and West Ukraine region. Ann. Parasitol. 58: 167-171.



- Barakat, A.M.A., Abdelaziz, M.M., Fadaly, M., 2009. Comparative diagnosis of toxoplasmosis in Egyptian small ruminants by indirect hemagglutination assay and elisa. *Global Veterinaria*, 3: 9-14.
- Barr, B., Anderson, M., 1992. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J. Vet.* 4: 365-67.
- Bartels, C.J., Wouda, W., Schukken, Y.H., 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*. 52: 247-257.
- Bartova, E., Sedlak, K., 2012. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in goats in the Czech Republic. *Vet. Med. (Praha)*. 57: 111-114.
- Bawm, S., Maung, W.Y., Win, M.Y., Thu, M.J., Chel, H.M., Khaing, T.A., Wai, S.S., Htun, L.L., Myaing, T.T., Tiwananthagorn, S., Igarashi, M., Katakura, K., 2016. Serological Survey and Factors Associated with *Toxoplasma gondii* Infection in Domestic Goats in Myanmar, *Scientifica* 2016: 1-4.
- Béjar, P., 2011. Infecciones digestivas y pulmonares de etiología parasitaria en ganado de la raza autóctona "Cabra Galega": Influencia de factores intrínsecos y extrínsecos. Trabajo Fin de Máster, Facultad de Veterinaria; Universidad de Santiago de Compostela.
- Berrag, B., Cabaret, J., 1996. Impaired pulmonary gas exchange in ewes naturally infected by small lungworms. *Int. J. Parasitol.* 26, 1397–1400.
- Berrag, B., Urquhart, G.M., 1996. Epidemiological aspects of lungworm infections of goats in Morocco. *Vet. Parasitol.* 61: 81-95.
- Bjerkås, I., Mohn, S.F., Presthus, J., 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.* 70: 271-274.
- Blood, D.C., Radostits, O.M., 1989. Text Book of Veterinary Medicine: Disease of Cattle, Sheep, Goats and Horses, seventh ed. Bailliere Tindall, Philadelphia, pp. 1160–1226.
- Borgsteede, F.H.M., Dercksen, D.P., 1996. Coccidial and helminth infections in goats kept indoors in the Netherlands. *Vet. Parasitol.* 61: 321-326.
- Borgsteede, F.H.M.; Hendricks, J., 1974. Identification of infective larvae of gastrointestinal nematode in cattle. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 99: 103-113.
- Bowman, D.D., 2014. *Georgis. Parasitology for Veterinarians*. Ed. Elsevier Saunders, 10<sup>a</sup> Ed.
- Bulbull, K.H., Baruah, N., Saleque, A., 2011. Epidemiological studies on moniezirosis in organized goat farm of Assam. *J. Vet. Parasitol.* 25: 173-174.
- Burger, N.C.; Nesvadba, J.; Nesvadba, Z.; Busato, A.; Gottstein, B., 2006. The incidence of *Dicrocoelium dendriticum* in Emmmental. *Berliner and Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 119: 324-329.
- Buxton, D., Maley, S.W., Thomson, K.M., Trees, A.J., Innes, E.A., 1997. Experimental infection of non-pregnant and pregnant sheep with *Neospora caninum*. *J. Comp. Pathol.* 117: 1-16.
- Buxton, D., Maley, S.W., Wright, S.E., Rodger, S., Bartley, P., Innes, E.A., 2007. *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: New aspects of an old story. *Vet. Parasitol.* 149: 25-8.

- Cabaret, J.; Anjorand, N.; Leclerc, C., 1986. Les élevages caprins en Touraine I- Mode d'élevage, parasitisme et estimation des pathologies chez la chèvre adulte. Recueil de Médecine Vétérinaire, 162: 575-585.
- Cabaret, J., Anjorand, N., Leclerc, C., 1989. Parasitic risk factors on pastures of French dairy goat farms. Small Rumin. Res. 2: 69-78.
- Carballeira, A., Devesa, C., Restuerta, R., Santillán, E., Uceda, F., 1983. Bioclimatología de Galicia. Fundación Pedro Barrié de la Maza. A Coruña, España.
- Castañó, P., Fuertes, M., Regidor-Cerrillo, J., Ferre, I., Fernández, M., Ferreras, M.C., Moreno-Gonzalo, J., González-Lanza, C., Pereira-Bueno, J., Katzer, F., Ortega-Mora, L.M., Pérez, V., Benavides, J., 2016. Experimental ovine toxoplasmosis: Influence of the gestational stage on the clinical course, lesion development and parasite distribution. Vet. Res. 47: 1-14.
- Castro-Trejo, L., García-Vasquez, Z., Casildo-Nieto, J., 1990. The susceptibility of lymnaeid snails to *Paramphistomum cervi* infections in Mexico. Vet. Parasitol. 35: 157-161.
- Catchpole J., Harris T.J., 1989. Interaction between coccidia and *Nematodirus battus* in lambs on pasture. Vet Rec. 124: 603-605.
- Catchpole, J., Norton, C.C., Gregory, M.W., 1993. Immunisation of lambs against coccidiosis. Vet. Rec. 132: 56-59.
- Cavalcante, A.C.R., Carneiro, M., Gouveia, A.M.G., Pinheiro, R.R., Vitor, R.W.A., 2008. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia 60: 36-41.
- Cavalcante, A.C.R., Teixeira, M., Monteiro, J.P., Lopes, C.W.G., 2012. *Eimeria* species in dairy goats in Brazil. Vet. Parasitol. 183: 356-358.
- Cayvaz, M., Karatepe, M., 2011. Seroprevalence of *Neospora caninum* in goats in niğde province. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 17: 935-939.
- Cenci-Goga, B.T., Ciampelli, A., Sechi, P., Veronesi, F., Moretta, I., Cambiotti, V., Thompson, P.N., 2013. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep in Grosseto district, Tuscany, Italy. BMC. Vet. Res. 9: 25.
- Cerbo, A.R.D., Manfredi, M.T., Zanzani, S., Stradiotto, K., 2010. Gastrointestinal infection in goat farms in Lombardy (Northern Italy): Analysis on community and spatial distribution of parasites. Small Rumin. Res. 88: 102-112.
- Chantal, J., Dorchie, P., Legueno, B., 1994. Enquete sur certaines zoonoses en Republique de Djibouti I. chez les uminants a l'abattoir de Djibouti. Rev. Med. Vet. 145: 633-640.
- Chartier, C., Hoste, H., 1997. Response to challenge infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in dairy goats: Differences between high and low-producers. Vet. Parasitol. 73: 267-176.
- Chartier, C., Paraud, C., 2012. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. Small Rumin. Res. 103: 84-92.
- Chartier, C., Baudry, C., Losson, B., De Meerschman, F., Romand, S., Thulliez, P., 2000. Neosporosis in goats: Results of two serological surveys in Western France. Point Vet. 31: 65-69.

- Charlier, J., De Meulemeester, L., Claerebout, E., Williams, D., Vercruysse, J., 2008. Qualitative and quantitative evaluation of coprological and serological techniques for the diagnosis of fasciolosis in cattle. *Vet. Parasitol.* 153: 44-51.
- Chhabra, R.C., Pandey, V.S., 1991. *Coccidia* of goats in Zimbabwe. *Vet. Parasitol.* 39: 199-205.
- Chibunda, R.T., Muhairwa, A.P., Kambarage, D.M., Mtambo, M.M.A., Kusiluka, L.J.M., Kazwala, R.R., 1997. Eimeriosis in dairy cattle farms in Morogoro municipality of Tanzania. *Prev. Vet. Med.* 31: 191-197.
- Cienfuegos, S., Vázquez, L., Dacal, V., Pardo, M., Fernández, G., Lago, N., Morrondo, P.; López, C., 2007. Estudio preliminar de las nematodosis broncopulmonares en el ganado ovino de Galicia. X Congreso Ibérico de Parasitología, Madrid.
- Cienfuegos, S., Díez-Banos, P., Vázquez, L., Dacal, V., Díaz, P., Panadero, P., Rodríguez, G., Lago, N., Pato, F.J., Viña, M., Morrondo, M., López, C., 2009a. Endoparasitic infections in grazing goats in Galicia (NW Spain): possible effects on health and productivity. XVII International Congress of Mediterranean Federation of Health and Production of Ruminants. Perugia, (Italy): 27-30.
- Cienfuegos, S., Díaz, P., Vázquez, L., Dacal, V., Lago, N., Pato, J., Fernández, G., Panadero, R., Viña, M., Morrondo, P., Díez-Baños, P., López, C., 2009b. Prevalencia e intensidad de parasitación en granjas de pequeños rumiantes en Galicia. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Tomo 1: 143-145.
- Čobádiová, A., Reiterová, K., Derdáková, M., Špilovská, S., Turčeková, Ľ., Hviščová, I., Hisira, V., 2013. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and tick-transmitted bacterium *Anaplasma phagocytophilum* infections in one selected goat farm in Slovakia. *Acta Parasitol.* 58: 541-546.
- Consellería do medio rural, 2017. Censo de gando ovino e cabrún.  
[http://mediorural.xunta.gal/institucional/estadisticas/medio\\_rural/gando\\_ovino\\_e\\_cabrun/](http://mediorural.xunta.gal/institucional/estadisticas/medio_rural/gando_ovino_e_cabrun/)
- Corbellini, L.G., Colodel, E.M., Driemeier, D., 2001. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13: 416-419.
- Corbellini, L.G., Smith, D.R., Pescador, C.A., Schmitz, M., Correa, A., Steffen, D.J., Driemeier, D., 2006. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.* 74: 130-141.
- Cordero, M.; Rojo, F.A.; Alunda, J.M.; Hidalgo, M.R.; Reguera, A.; Castañón, L., 1985. Principales problemas parasitarios ligados al pastoreo en el ganado ovino en la cuenca del Duero. 2. Aspectos geográficos y climáticos, y problemas parasitarios del ganado ovino en la provincia de León. Comunicaciones I.N.I.A.. Serie: Higiene y Sanidad Animal, 11: 21-35.
- Cornelissen, A.W.C.A., Verstegen, R., van den Brand, H., Perie, N.M., Eysker, M., Lam, T.J.G.M., Pijpers, A., 1995. An observational study of *Eimeria* species in housed cattle on Dutch dairy farms. *Vet. Parasitol.* 56: 7-16.
- Couvillion, C.E., Siefker, C., Evans, R.R., 1996. Epidemiological study of nematode infections in a grazing beef cow-calf herd in Mississippi. *Vet. Parasitol.* 64: 207-218.

- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Malone, J.B., 2002. A cross-sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Apennines. *Vet. Parasitol.* 108: 137-146.
- Cringoli, G., Taddei, R., Rinaldi, L., Veneziano, V., Musella, V., Cascone, C., Sibilio, G., Malone, J.B., 2004. Use of remote sensing and geographical information systems to identify environmental features that influence the distribution of paramphistomosis in sheep from the southern Italian Apennines. *Vet. Parasitol.* 122: 15-26.
- Czopowicz, M., Kaba, J., Szaluś-Jordanow, O., Nowicki, M., Witkowski, L., Frymus, T., 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Vet. Parasitol.* 178: 339-341.
- Dacal, V., Vázquez, L., Díaz, P., Pato, F.J., Panadero, R., López, C., Paz, A., Suárez, J.L., Fernández, G., Díez-Baños, P., Morrondo, P., 2009. Infección por *Moniezia* spp. en rumiantes domésticos y corzos que pastan en zonas comunes. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 16: 238.
- Dauguschies, A., Najdrowski, M., 2005. Eimeriosis in cattle: Current understanding. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Heal.* 52: 417-427.
- Davis, S.W., Dubey, J.P., 1995. Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. *Journal of Parasitology* 81: 882-886.
- De Graaf, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H., Peeters, J.E., 1999. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.* 29: 1269-1287.
- de la Fuente, C., Alunda, J.M., 1992. A quantitative study of *Eimeria* infections of goats from central Spain. *Vet. Parasitol.* 41: 7-15.
- Diakou, A., Papadopoulos, E., Panousis, N., Karatzias, C., Giadinis, N., 2013. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming *Vet. Parasitol.*, 198: 387-390.
- Díaz-Cao, J.M., 2016. Estudio epidemiológico de infecciones que afectan a la reproducción en los rumiantes domésticos de Galicia. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Díaz, P.; Pedreira, J.; Arias, M.; Lomba, C.; Suárez, J.L.; Paz, A.; Morrondo, P., 2005. Infecciones parasitarias en vacas de raza rubia gallega de la provincia de Lugo: influencia de la edad. *Buiatría española*, 10: 231-234.
- Díaz, P.; Paineira, A.; Dacal, V.; Vázquez, L.; Cienfuegos, S.; Pato, F.J.; Paz-Silva, A.; Panadero, R.; Sánchez-Andrade, R.; López, C.; Díez-Baños, P.; Morrondo, P. 2010. *Eimeria* infections in wild ruminants (*Capreolus capreolus*) and extensive reared domestic ruminant from Galicia (N.W. Spain). *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, 69: 83-89.
- Díaz, J.M., Fernández, G., Prieto, A., Valverde, S., Lago, N., Díaz, P., Panadero, R., López, C., Morrondo, P., Díez-Baños, P., 2014. Epidemiology of reproductive pathogens in semi-intensive lamb-producing flocks in North-West Spain: A comparative serological study. *Vet. J.* 200: 335-338.
- Díaz-Núñez, M.; Díez-Baños, P.; Morrondo-Pelayo, P.; Mezo-Menéndez, M., 1991. Efecto del sistema de pastoreo sobre la infestación por nematodos gastrointestinales en ovino de raza

- gallega. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidental-Europeas de Parasitología (ICASEP I). Valencia.
- Díez Baños, P.; Cordero Del Campillo, M.; Rojo Vázquez, F.A.; Díez Baños, N., 1979. Pruebas controladas de albendazol en ovinos naturalmente infestados con trichostrongylidae. *Anales Facultad Veterinaria León*, 25: 199-213.
- Díez-Baños, P.; Martínez, C.; Morrondo, P.; Mezo, M.; Barreiro, A. 1989a. Helmintosis pulmonares en ovinos de raza gallega. Seminario de Estudios Galegos: V Xornadas de Estudos da Sanidade Animal en Galicia (Santiago, España).
- Díez-Baños, P.; Morrondo-Pelayo, P.; Barreiro, A; Sánchez-Andrade, R., 1989b. Influencia en las medidas de control en la fasciolosis del ganado vacuno de Galicia. Seminario de Estudios galegos: V Xornadas de Estudos da Sanidade Animal en Galicia. (Santiago, España).
- Díez-Baños, P.; Sánchez-Andrade, R.; Morrondo-Pelayo, P., 1989c. Estudio epidemiológico de la fasciolosis bovina en Galicia. IV Congreso Nacional y I Congreso Ibérico de Parasitología. Cáceres, 25-29 Septiembre.
- Díez-Baños, N.; Díez-Baños, P.; Cordero Del Campillo, M.; Mezo Menéndez, M., 1991a. Trichostrongilidae gástricos en ovinos: prevalencia e intensidad genérica y específica en infestación natural. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales Europeas de Parasitología (ICASEP I). Valencia, 285.
- Díez-Baños, N.; Díez-Baños, P.; Cordero Del Campillo, M.; Morrondo Pelayo, P., 1991b. Infestación subclínica por trichostrongídeos gástricos en ovinos de rebaños mantenidos en pastoreo. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales Europeas de Parasitología (ICASEP I). Valencia, 260.
- Díez-Baños, N., Cabaret, J., Díez-Baños, P., 1992. Interspecific interactions in naturally acquired nematode communities from sheep abomasum in relation to age of host and season in four areas of Leon (Spain). *Int. J. Parasitol.* 22, 327-334.
- Díez-Baños, P., Morrondo-Pelayo, P., Feijoo-Penela, A., Carrillo-González, B., López-Sández, C., 1994. Relationship between the Excretion of Protostrongylid Larvae in Sheep in North-West Spain and Climatic Conditions. *J. Helminthol.* 68: 197-201.
- Díez-Baños, P., Morrondo, P., Carrillo, B., López, C., Feijóo, A., 1995. Evaluación de la aplicación de albendazol contra nematodos pulmonares en ovinos en el noroeste de España. *Vet. Méx.* 26, 117-121.
- Díez-Baños, P., Morrondo, P., Díez-Baños, N., 1999. Parasitosis respiratorias, in: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), *Parasitología Veterinaria*. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid: 374-399.
- Díez-Baños, P.; Rojo-Vázquez, F.A.; Morrondo-Pelayo, P., 2003. Coccidiosis ovina. En: *Enfermedades Parasitarias del Ganado Ovino y Caprino*. Ed. GEA, Veterinaria Esteve: 18-30.
- Díez-Baños, N.; Martínez-Delgado, A.; Hidalgo-Argüello, M.R., 2006. Estudio parasitológico del ganado ovino en la provincia de León (España) mediante análisis coprológico. Veinte años de Buiatría. XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes (Fe.Me.S.P.Rum). Lugo-Santiago de Compostela: 380-383.



- Díez-Baños, P., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Francisco, I., Suárez, J.L., Díaz, P., Panadero, R., Arias, M., Pinceira, A., Paz-Silva, A., Morondo, P., 2008. Field evaluation for anthelmintic-resistant ovine gastrointestinal nematodes by in vitro and in vivo assays. *J. Parasitol.* 94, 925-928.
- Díez-Baños, N.; Martínez Delgado, A.; Hidalgo-Argüello, M.R., 2009a. Estudio comparativo de parásitos hepáticos en rumiantes silvestres abatidos en tres reservas regionales de caza del norte de la provincia de León (España). XI Congreso Ibérico de Parasitología. Lisboa (Portugal).
- Díez-Baños, N.; Fregeneda Grandes, J.; Martínez Delgado, A.; Hidalgo-Argüello, M.R., 2009b. Endoparásitos en rumiantes de la Cordillera Cantábrica en su versión leonesa: problemas sanitarios y de salud pública. VII Congreso de Veterinarios de Castilla y León. León.
- Dimander, S.-O., Höglund, J., Ugglå, A., Spörndly, E., Waller, P.J., 2003. Evaluation of gastrointestinal nematode parasite control strategies for first-season grazing cattle in Sweden. *Vet. Parasitol.* 111: 193-209.
- Dinaburg, A.G., 1944. Development and survival under outdoor condition of eggs and, larvae of the common ruminant stomach worm, *Haemonchus contortus*. *Journal of Agricultural Research*, 69: 421-433.
- Doenhoff, M.J., Chiodini, P.L., Hamilton, J.V., 2004. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: Can it be done with antibodies? *Trends Parasitol.* 20: 35-39.
- Domínguez-Torano, I.A.; Gómez Muñoz, M.T.; De La Fuente, C.; Carpintero, M.; Cuquerella, M.; Alunda, J. M., 2000. Parasitosis gastrointestinales en ganado ovino de la zona centro: modelo de estructura poblacional y distribución etaria. *Medicina Veterinaria*, 17: 147-154.
- Domke, A.V.M., Chartier, C., Gjerde, B., Leine, N., Vatn, S., Stuen, S., 2013. Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Vet. Parasitol.* 194: 40-48.
- Donahoe, S.L., Lindsay, S.A., Krockenberger, M., Phalen, D., Šlapeta, J., 2015. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 4:216-238.
- Douch, P.G.C., Morum, P.E., 1993. The effect of age on the response of Romney sheep to gastrointestinal nematodes during grazing. *Int. J. Parasitol.* 23: 651-655.
- Dubey, J. P., 1977. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals. In *Parasitic protozoa*, J. P. Kreier (ed.). Academic Press, Nueva York: 101-237.
- Dubey, J.P., 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 41: 1-16.
- Dubey J.P., 2010. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. second ed. CRC Press; Boca Raton, Florida
- Dubey, J.P., Beattie, C.P., 1988. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

- Dubey, J.P., Frenkel, J.K., 1974. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. *Vet. Pathol.* 11: 350-379.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., 1990. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 2: 230-33.
- Dubey, J.P., Schares, G., 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 140: 1-34.
- Dubey, J.P., Schares, G., 2011. Neosporosis in animals-The last five years. *Vet. Parasitol.* 180: 90-108.
- Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK., 1970. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J. Exp. Med.* 132: 636-662.
- Dubey, J.P., Miller, S., Desmonts, G., Thulliez, P., Anderson, W.R., 1986. *Toxoplasma gondii*-induced abortion in dairy goats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188: 159-62.
- Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J., Uggla, A., 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 1269-1285.
- Dubey, J.P., Hartley, W.J., Lindsay, D.S., Topper, M.J., 1990. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J. Parasitol.* 76: 127-130.
- Dubey J. P., Lindsay D. S., Speer C. A. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 267-299.
- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M., 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-67.
- Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Rajendran, C., Miska, K., Ferreira, L.R., Martins, J., Kwok, O.C.H., Choudhary, S., 2011. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* 150: 233-236.
- Düwel, D.; Reisenleiter, R., 1984. Fasciola hepatica: coproscopic diagnosis compared with the worm burden in sheep. *Helminthologia*, 21: 151-159.
- Eckert, J., Hertzberg, H., 1994. Parasite control in transhumant situations. *Vet. Parasitol.* 54: 103-125.
- Eckert, J., Taylor, M., Catchpole, J., Locois, D., Coudert, P., Bucklar, H. (1995). Morphological characteristics of oocysts. De: biotechnology. Guidelines of techniques in coccidiosis research. COST 89/820. Ed. Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W., Coudert, P. European Commission, Science, Research and Development, Brussels.
- Edelhofer, R. and H. Aspöck, 1996. Infektionsquellen und infektionswege aus der sicht des toxoplasmose-screening der schwangeren in österreich. *Mitt. österrGes. Tropenmed. Parasitol.* 18: 59-70.
- Eiras, C., Arnaiz, I., Alvarez-García, G., Ortega-Mora, L.M., Sanjuán, M.L., Yus, E., Diéguez, F.J., 2011. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, Galicia. *Prev. Vet. Med.* 98: 128-132.
- Eleni, C., Crotti, S., Manuali, E., Costarelli, S., Filippini, G., Moscati, L., Magnino, S., 2004. Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus. *Vet. Parasitol.* 123: 271-274.



- Else, K.J., 2005. Have gastrointestinal nematodes outwitted the immune system? *Parasite Immunol.* 27: 407-415.
- El-Shahawy, I.S., 2016. Coproscopic study on enteric protozoan parasites of goats (*Capra hircus* L., 1758) in upper Egypt. *Pak. J. Zool.* 48: 1477-1483.
- Epe, C., Coati, N., Schnieder, T., 2004. Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 111: 243-247.
- Eysker, M., 1997. The sensitivity of the Baermann method for the diagnosis of primary *Dictyocaulus viviparus* infections in calves. *Vet. Parasitol.* 69: 89-93.
- Eysker, M., Boersema, J.H., Hendriks, W.M.L., 1990. Recovery of different stages of *Dictyocaulus viviparus* from cattle lungs by a combination of a perfusion and a Baermann technique. *Res. Vet. Sci.* 49: 373-374.
- Faizal, A.C.M., Rajapakse, R.P.V.J., 2001. Prevalence of coccidia and gastrointestinal nematode infections in cross bred goats in the dry areas of Sri Lanka. *Small Rumin. Res.* 40: 233-238.
- Faria, E.B., Gennari, S.M., Pena, H.F.J., Athayde, A.C.R., Silva, M.L.C.R., Azevedo, S.S., 2007. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet. Parasitol.* 149: 126-129.
- Faull, W.B., Clarkson, M.J., Winter, A.C., 1986. Toxoplasmosis in a flock of sheep: some investigations into its source and control. *Vet. Rec.* 119: 491-493.
- Ferre Pérez, I.; Calvo López-Guerrero, E.; Rojo-Vázquez, F.A., 1991. Contribución a la confección de un mapa parasitológico del ganado ovino de la provincia de Segovia. *Medicina Veterinaria*, 10: 556-559.
- Ferre, I.; Calvo, E.; Rojo-Vázquez, F.A., 1991. Contribución a la confección de un mapa parasitológico del ganado ovino de la provincia de Segovia. *Medicina Veterinaria*, 8: 556-559.
- Ferre, I., Ortega-Mora, L.M., Rojo-Vázquez, F.A., 1995. Seroprevalence of *Fasciola hepatica* infection in sheep in northwestern Spain. *Parasitol. Res.* 81: 137-142.
- Figliuolo, L.P.C., Rodrigues, A.A.R., Viana, R.B., Aguiar, D.M., Kasai, N., Gennari, S.M., 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Rumin. Res.* 55: 29-32.
- Figueiredo, J.F., Silva, D.A., Cabral, D.D., Mineo, J.R., 2001. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* 95: 687-692.
- Foreyt, W.J., 1990. Coccidiosis and cryptosporidiosis in sheep and goats. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 6: 655-670.
- Foreyt, W.J., Hancock, D., Wescott, R.B., 1986. Prevention and control of coccidiosis in goats with decoquinate. *Am. J. Vet. Res.* 47: 333-335.
- Fox, J. E., 1985. Coccidiosis in cattle. *Mod. Vet. Pract.* 66: 113-116.

- Freiría, D., 2003. Estudio sobre resistencias antihelmínticas en pequeños rumiantes. Memoria de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Frenkel, J.K., 1990. Transmission of toxoplasmosis and the role of immunity in limiting transmission and illness. J. Am. Vet. Med. Assoc. 196, 233-240.
- Gadahi, J.A., Arshed, M.J., Ali, Q., Javaid, S.B., Shah, S.I., 2009. Prevalence of gastrointestinal parasites of sheep and goat in and around Rawalpindi and Islamabad, Pakistan. Vet. World 2: 51-53.
- García Romero, C., 1992. Nematodosis gastrointestinales bovinas en Galicia y ovinas en Castilla-León. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- García Romero, C.; Valcárcel-Sancho, F.; Cordero Del Campillo, M.; Rojo-Vázquez, F. A., 1993. Etiología y epizootiología de las infestaciones por tricostrongídeos ovinos en la comarca de Oropesa (Toledo). Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales, 8: 155-168.
- García-Romero, C, Valcárcel, F., Rojo-Vázquez, F. A., 1997. Influence of climate on pasture infectivity of ovine trichostrongyles in dry pastures. J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health, 44: 437.
- García, A.L.; Juste, R.A., 1987. Observaciones sobre la prevalencia de los helmintos parásitos del ganado vacuno de la C.A.V. ITEA, 7: 262-322.
- García-Bocanegra, I., Cabezón, O., Pabón, M., Gómez-Guillamón, F., Arenas, A., Alcaide, E., Salas-Vega, R., Dubey, J.P., Almería, S., 2012. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). Vet. J. 191: 257-260.
- García-Bocanegra, I., Cabezón, O., Hernández, E., Martínez-Cruz, M.S., Martínez-Moreno, Á., Martínez-Moreno, J., 2013. *Toxoplasma gondii* in ruminant species (Cattle, Sheep, and Goats) from southern Spain. J. Parasitol. 99: 438-440.
- Garijo, M.M.; Alonso De Vega, F.D.; Martínez-Carrasco, C.; Ruiz-Ibáñez, M.R. (2007). Nematodosis broncopumonares en el ganado ovino de la región de Murcia (sureste de España). Revista Ibérica de Parasitología, 67: 117-125.
- Gasser, R.B., 2006. Molecular tools - Advances, opportunities and prospects. Vet. Parasitol. 136: 69-89.
- Gazzonis, A.L., Veronesi, F., Di Cerbo, A.R., Zanzani, S.A., Molineri, G., Moretta, I., Moretti, A., Fioretti, D.P., Invernizzi, A., Manfredi, M.T., 2015. *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy - prevalence and risk factors. Ann. Agric. Environ. Med. 22: 62-68.
- Gazzonis, A.L., Alvarez Garcia, G., Zanzani, S.A., Ortega Mora, L.M., Invernizzi, A., Manfredi, M.T., 2016. *Neospora caninum* infection in sheep and goats from north-eastern Italy and associated risk factors. Small Rumin. Res. 140: 7-12.
- Gebeyehu, E.B., Jung, Byun, J.-W., Oem, J.K., Kim, H.-Y., Lee, S.-J., Park, S.-C., Kwak, D., 2013. Serologic detection of antibodies against *Fasciola hepatica* in native Korean goats (*Capra hircus coreanae*). Vet. Med. (Praha). 58: 609-612.

- Gebremedhin, E.Z., Abdurahaman, M., Hadush, T., Tessema, T.S. (2014). Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats slaughtered for human consumption in Central Ethiopia. BMC Research Notes 7: 696.
- Georgieva, P.N. Prelezov, V.T., Koinarski, S., 2006. *Neospora caninum* and neosporosis in animals—a review. Bulgarian J. Vet. Med., 9: 1-26.
- Geurden, T., Vercruysse, J., 2007. Field efficacy of eprinomectin against a natural *Muellerius capillaris* infection in dairy goats. Vet. Parasitol. 147: 190-193.
- Gevrey, J., 1971. Les formes libres des "strongles digestifs" des ovins: Morphologiecultures au laboratoire-Ecologie. These Sciences Lyon, Universit Claude Bernard 1971.
- Gondim, L.F., Gao, L., McAllister, M.M., 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. J. Parasitol. 88: 1159-1163.
- Gondim, L.F.P., Mcallister, M.M., Pitt, W.C., Zemlicka, D.E., 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 34: 159-61.
- González-Lanza, C., Manga-Gonzalez, Y., Del-Pozo-Carnero, P., Hidalgo-Argüello, R., 1989. Dynamics of elimination of the eggs of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in the faeces of cattle in the Porma Basin, Spain. Vet. Parasitol. 34: 35-43.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y., Del-Pozo-Carnero, P., 1993. Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in highland areas in León Province, Northwest Spain. Parasitol. Res. 79: 488-491.
- Gordon, H.M., 1967. Some aspects of the control of helminthosis in sheep. Vet Inspector NSW, 31: 88-99.
- Gorski, P., Niznikowski, R., Strzelec, E., Popielarczyk, D., Gajewska, A., Wedrychowicz, H., 2004. Prevalence of protozoan and helminth internal parasite infections in goat and sheep flocks in Poland. Arch. fur Tierzucht 47: 43-49.
- Gupta, A., Dixit, A.K., Dixit, P., Mahajan, C., 2013. Prevalence of gastrointestinal parasites in small ruminants in and around Jabalpur, India. J. Vet. Parasitol. 27: 59-60.
- Gwaze F.R., Chimonyo M., Dzama K., 2009. Prevalence and loads of gastrointestinal parasites of goats in the communal areas of the Eastern Cape province of South Africa. Small Rumin. Res, 84: 132-134.
- Hamilton, C.M., Katzer, F., Innes, E.A., Kelly, P.J., 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in small ruminants from four Caribbean islands. Parasit. Vectors 7: 449.
- Harper, C.K., Penzhorn, B.L., 1998. Seasonal occurrence of coccidia in a mixed herd of sheep and goats at Nebo, Northern Province, South Africa. J. S. Afr. Vet. Assoc. 69: 93-94.
- Harper, C.K., Penzhorn, B.L., 1999. Occurrence and diversity of coccidia in indigenous, Saanen and crossbred goats in South Africa. Vet. Parasitol. 82: 1-9.
- Hashim, N., Yusof, A.M., 2016. Rearing systems related to gastrointestinal parasites in goats from selected area in Terengganu. J. Teknol. 78: 133-138.

- Hassum, I.C., Menezes, R.C., 2005. Natural infection with species of the genus *Eimeria* in small ruminant raised in two municipalities of the State Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 14: 95-100.
- Hayashi, T.; Fukuta, Y.; Harada, Y.; Anme, Y.; Noda, K., 1991. Ruminant nematode larvae grazing cattle in Sorayama and Tawara cattle grazing raising pastures. *Bulletin of the fac. tottori, Japan*, 44: 161-166.
- Hecker, Y.P., Moore, D.P., Manazza, J.A., Unzaga, J.M., Späth, E.J., Pardini, L.L., Venturini, M.C., Roberi, J.L., Campero, C.M., 2013. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop. Anim. Health. Prod.* 45: 1645-1647.
- Helmick, B., Otter, A., Mcgarrry, J., Buxton, D., 2002. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res. Vet. Sci.* 73: 187-189.
- Hendrix C.M. 1998. *Diagnostic Veterinary Parasitology*. Mosby, St Louis, USA, pp.325
- Hidalgo-Argüello, M.R.; Cordero-Del-Campillo, M., 1981. Kinetics of the elimination of oocysts of *Eimeria* spp. in ovines in rough pastures. VI International Congress of Protozoology. Warszawa (Poland).
- Hidalgo-Argüello, M.R.; Cordero-Del-Campillo, M., 1987. Quantity of *Eimeria* spp. oocyst elimination in sheep. *Angewandte Parasitologie*, 28: 7-14.
- Hidalgo-Argüello, M.R.; Díez-Baños, N.; Calvo López Guerrero, E.; Rojo-Vázquez, F.A., 1995. Estudio parasitológico en el ganado ovino de la provincia de Burgos. *Medicina Veteriaria*, 6: 397-405.
- Hidalgo-Argüello, M.R.; González-Lanza, C.; Manga-González, M.Y.; Martínez, M.C., 1997. Ovine coccidia in the Porma river basin (León, Spain). *Research and Reviews in Parasitology*, 57: 127-130.
- Hidalgo-Argüello, M.R.; Cordero-Del-Campillo, M., 1999. Coccidiosis. En: *Parasitología Veterinaria*. Cordero, M.; Rojo, F.A. (Coordinadores). Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana: 195-212.
- Holm, S.A., Sörensen, C.R., Thamsborg, S.M., Enemark, H.L., 2014. Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. *Parasite* 21: 37.
- Hoste, H., Chartier, C., 1993. Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *Am. J. Vet. Res.* 54: 1886-1893.
- Howe, P.A., 1984. Coccidiosis. Refresher course for the veterinarians. Proceedings No.73, The J. D. Stewart memorial refresher course in goats. Post-Graduate Veterinary Science Committee, University of Queensland: 468-470.
- Hubert, J., Kerboeuf, D., 1984. A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: Comparison with fecal cultures. *Can. J. Comp. Med.* 48: 63-71.
- Huerta-Pena, J.C., Martinez-Herrera, D.I., De Jesus Peniche-Cardena, A.E., Villanueva-Valencia, M., Hernández-Ruiz, S.G., Villagomez-Cortes, J.A., Barradas-Pina, F.T., Morales-Alvarez, J.F., Flores-Castro, R., 2011. Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* in

- goats from municipalities of the central region of Veracruz. Trop. Subtrop. Agroecosystems 13: 445-454.
- Hungerford, T.G., 1990. Diseases of Livestock, 9<sup>a</sup> Ed. MacGraw-Hill Medical, Sydney, Australia.
- Hutchinson, W.M., 1965. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. Nature, London 206, 961-962.
- Iovu, A., Györke, A., Mircean, V., Gavrea, R., Cozma, V., 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania. Vet. Parasitol. 186: 470-474.
- Jäger, M., Gauly, M., Bauer, C., Failing, K., Erhardt, G., Zahner, H., 2005. Endoparasites in calves of beef cattle herds: Management systems dependent and genetic influences. Vet. Parasitol. 131: 173-191.
- Jalila, A., Dorny, P., Sani, R., Salim, N.B., Vercruysse, J., 1998. Coccidial infections of goats in Selangor, peninsular Malaysia. Vet. Parasitol. 74: 165-172.
- Jarvinen, J.A., 2008. Infection of llamas with stored *Eimeria macusaniensis* oocysts obtained from guanaco and alpaca feces. Journal of Parasitology, 94: 969-972.
- Jittapalapong, S., Nimsupan, B., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kabeya, H., Maruyama, S., 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok Metropolitan areas, Thailand. Vet. Parasitol. 145: 138-141.
- Jokelainen, P., Näreaho, A., Knaapi, S., Oksanen, A., Rikula, U., Sukura, A., 2010. *Toxoplasma gondii* in wild cervids and sheep in Finland: north-south gradient in seroprevalence. Vet Parasitol. 171:331-336.
- Johnson, M.J., Behnke, J.M., Coles, G.C., 1996. Detection of gastrointestinal nematodes by a coproantigen capture ELISA. Res. Vet. Sci. 60: 7-12.
- Jung, B.Y., Lee, S.H., Kwak, D., 2014. Evidence of *Neospora caninum* exposure among native Korean goats (*Capra hircus coreanae*). Vet. Med. (Praha). 59: 637-640.
- Kahan TB, Greiner EC (2013). Coccidiosis of Goats in Florida, USA. Open J. Vet. Med. 3: 209-212.
- Kambarage, D.M., Kimera, S.I., Kusiluka, L.J.M., Mtambo, M.M.A., 1996. Prevalence of *Eimeria* and *Cryptosporidium* oocysts in cattle, sheep and goats in Morogoro region, Tanzania. J. Appl. Anim. Res. 9: 73-78.
- Kantzoura, V., Diakou, A., Kouam, M.K., Feidas, H., Theodoropoulou, H., Theodoropoulos, G., 2013. Seroprevalence and risk factors associated with zoonotic parasitic infections in small ruminants in the Greek temperate environment. Parasitol. Int. 62: 554-560.
- Kanyari PW., 1988. Experimental infections with coccidiosis and serum antibody quantitation in two breeds of goats. Vet Parasitol. 28: 11-18.
- Kasim, A.A., Al-Shawa, Y.R., 1985. Prevalence of *Eimeria* in feces of cattle in Saudi Arabia. Veterinary Parasitology 17: 95-99.
- Kassai, T., 1999. Veterinary Helminthology. Butterworth Heinemann, Oxford, UK.
- Kates, K.C., 1950. Survival on pasture of free-living stages of some common gastrointestinal nematodes of sheep. Proc. Helminthol. Soc. Wash. 17: 39-58.



- Keyyu, J.D., Kyvsgaard, N.C., Kassuku, A.A., Willingham, A.L., 2003. Worm control practices and anthelmintic usage in traditional and dairy cattle farms in the southern highlands of Tanzania. *Vet. Parasitol.* 114: 51-61.
- Khan, M.K., Sajid, M.S., Khan, M.N., Iqbal, Z., Iqbal, M.U., 2009. Bovine fasciolosis: Prevalence, effects of treatment on productivity and cost benefit analysis in five districts of Punjab, Pakistan. *Res. Vet. Sci.* 87: 70-75.
- Khan, M.N., Sajid, M.S., Khan, M.K., Iqbal, Z., Hussain, A., 2010. Gastrointestinal helminthiasis: Prevalence and associated determinants in domestic ruminants of district Toba Tek Singh, Punjab, Pakistan. *Parasitol. Res.* 107: 787-794.
- King, J.S., Šlapeta, J., Jenkins, D.J., Al-Qassab, S.E., Ellis, J.T., Windsor, P.A., 2010. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 40: 945-50.
- Kírcalí Sevimli, F., Kozan, E., Doğan, N., 2011. Efficacy of eprinomectin pour-on treatment in sheep naturally infected with *Dictyocaulus filaria* and *Cystocaulus ocreatus*. *J. Helminthol.* 85: 472-475.
- Kloosterman, A., Frankena, K., Ploeger, H.W., 1989. Increased establishment of lungworms (*Dictyocaulus viviparus*) in calves after previous infections with gastrointestinal nematodes (*Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora*). *Vet. Parasitol.* 33: 155-163.
- Kloosterman, A., Ploeger, H.W., Frankena, K., 1990. Increased establishment of lungworms after exposure to a combined infection of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora*. *Vet. Parasitol.* 36: 117-122.
- Kobayashi, Y., Yamada, M., Omata, Y., Koyama, T., Saito, A., Matsuda, T., Okuyama, K., Fujimoto, S., Furuoka, H., Matsui, T., 2001. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. *J. Parasitol.* 87: 434-436.
- Konnai, S., Mingala, C.N., Sato, M., Abes, N.S., Venturina, F.A., Gutierrez, C.A., Sano, T., Omata, Y., Cruz, L.C., Onuma, M., Ohashi, K., 2008. A survey of abortifacient infectious agents in livestock in Luzon, the Philippines, with emphasis on the situation in a cattle herd with abortion problems. *Acta Trop.* 105: 269-273.
- Koudela, B., Boková, A., 1998. Coccidiosis in goats in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 76: 261-267.
- Koyama, T., Kobayashi, Y., Omata, Y., Yamada, M., Furuoka, H., Maeda, R., Matsui, T., Saito, A., Mikami, T., 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. *J. Parasitol.* 87: 1486-1488.
- Krishnamurthy, K., Kshirsagar, H.S., 1976. Incidence of coccidia in the Goat of the Marathwada region of Maharashtra state. *Marathwada Univ. J. Sci.* 15: 153-156.
- Kusiluka, L.J.M., Kambarage, D.M., Matthewman, R.W., Harrison, L.J.S., Daborn, C.J., 1996. Coccidiosis of small ruminants in Tanzania. *Small Rumin. Res.* 21: 127-131.
- Kusiluka, L.J.M., Kambarage, D.M., Harrison, L.J.S., Daborn, C.J., Matthewman, R.W., 1998. Prevalence and seasonal patterns of coccidial infections in goats in two ecoclimatic areas in Morogoro, Tanzania. *Small Rumin. Res.* 30: 85-91.

- Kusiluka, L.J.M.; Kambarage, D.M., 2006. Diseases of small ruminants in sub-Saharan Africa: a handbook on common diseases of sheep and goats in Sub-saharan Africa. Ed. VETAID: 1-110.
- Lago, N., López, C., Panadero, R., Cienfuegos, S., Pato, J., Prieto, A., Díaz, P., Mourazos, N., Fernández, G., 2012. Seroprevalence and risk factors associated with Visna/Maedi virus in semi-intensive lamb-producing flocks in northwestern Spain. *Prev. Vet. Med.* 103: 163-169.
- Lashari, M.H., Tasawar, Z., 2011. Prevalence of some gastrointestinal parasites in sheep in southern punjab, pakistan. *Pak. Vet. J.* 31: 295-298.
- Le Jambre, L.F., Dominik, S., Eady, S.J., Henshall, J.M., Colditz, I.G., 2007. Adjusting worm egg counts for faecal moisture in sheep. *Vet. Parasitol.* 145: 108-115.
- Levine, N.D., 1968. *Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, USA.
- Levine, N.D., 1985. *Veterinary protozoology*, Iowa State University Press, Ames, 414 pp.
- Levine, N.D., Ivens, V., Fritz, T.E., 1962. *Eimeria christenseni* sp. n. and other coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of the goat. *J. Parasitol.* 48: 255-269.
- Lima, J.D., 1980. *Eimeria caprovina* sp. n. from the domestic goat, *Capra Hircus*, from the USA: *Eimeria caprovina* sp. n. from the goat. *J. Protozool.* 27: 153-154.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Duncan, R.B., 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* 82:327-333.
- Liu, Z.-K., Li, J.-Y., Pan, H., 2015. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in small ruminants in China. *Prev. Vet. Med.* 118: 488-492.
- Llorente Alonso, M., 1999. Epidemiología de la gastroenteritis parasitaria ovina en sistemas de extensivos del valle medio del Ebro: efecto del parto en la dinámica de la infección. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
- Lopes, W.D.Z., Dos Santos, T.R., Da Silva, R.S., Rossanese, W.M., De Souza, F.A., Rodrigues, J.D.F., 2010. Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. *Res. Vet. Sci.* 88: 104-106.
- López, C., Panadero, R., Díez, P., Morrondo, P., 1997. Development of *Neostromylus linearis* in *Cernuella (Cernuella) virgata* experimentally infected and maintained in the subhumid climate of Galicia in northwest Spain. *J. Helminthol.* 71: 211-215.
- López, C., Panadero, R., Díez, P., Morrondo, P., 1998. Effect of the infection by *Neostromylus linearis* on the survival of the intermediate host *Cernuella (Cernuella) virgata*. *Parasite* 5: 181-184.
- López, C.M., Cienfuegos, S., Dacal, V., Vázquez, L., Panadero, R., Fernández, G., Díaz, P., Lago, N., Díez-Baños, P., Morrondo, M.P., 2010. Efficacy of anthelmintic control programs against natural *Muellerius capillaris* infection in sheep in the north-west of Spain. Effect on blood gases and pH in venous blood samples. *Parasite* 17: 167-171.
- López, C.M., Fernández, G., Viña, M., Cienfuegos, S., Panadero, R., Vázquez, L., Díaz, P., Pato, J., Lago, N., Dacal, V., Díez-Baños, P., Morrondo, P., 2011. Protostrongylid infection in meat sheep from Northwestern Spain: Prevalence and risk factors. *Vet. Parasitol.* 178: 108-114.



- López, C.M., Panadero, R., Díaz, P., Pérez, A., Cabanelas, E., Díez-Baños, P., Morondo, P., 2013. The goat as a risk factor for parasitic infections in ovine flocks. Congreso de la Sociedad Española de Parasitología. Gran Canaria, 17-20 de Septiembre.
- López-Gatius, F., García-Ispuerto, I., Santolaria, P., Yániz, J.L., López-Béjar, M., Nogareda, C., Almería, S., 2005. Relationship between rainfall and *Neospora caninum*-associated abortion in two dairy herds in a dry environment. J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health. 52: 147-152.
- Loste, A., Marca, M.C., Ramos, J.J., Fernández, A., Saéz, T., Sanz, M.C., 1995. Estudio serológico de toxoplasmosis en las ovejas de la provincia de Zaragoza, en: SEOC: 85-91.
- Luo, H.Q., Li, K., Zhang, H., Wu, B., Wang, J., Shahzad, M., Tu, Y.Q., Song, X.Z., Sun, S.W., 2016. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Hubei Province, China. Trop. Biomed. 33: 285-289.
- Machado, G.P., Kikuti, M., Langoni, H., Paes, A.C., 2011. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. Vet. Parasitol. 182:356-358.
- MAFF, 1986. Manual of veterinary parasitological laboratory techniques. Ed: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London, UK: Her Majesty's Stationary Office.
- Maganga, G.D., Abessolo, A.L., Mikala Okouyi, C.S., Labouba, I., Mbeang Beyeme, A.M., Mavoungou, J.F., Agossou, E., Cossic, B., Akue, J.-P., 2016. Seroprevalence and risk factors of two abortive diseases, toxoplasmosis and neosporosis, in small ruminants of the Mongo County, southern Gabon. Small Rumin. Res. 144: 56-61.
- Mage, C., 1989. Épidémiologie de l'infestation par *Fasciola hepatica* chez les bovins en Limousin (France). Revue de Médecine Vétérinaire (Toulouse), 140: 407-411.
- Mainar, R.C., de la Cruz, C., Asensio, A., Domínguez, L., Vázquez-Boland, J.A., 1996. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. Vet. Res. Commun. 20: 153-159.
- Manfredi, M.T., 2006. Biology of gastro-intestinal nematodes of ruminants. Parassitologia 48: 397-401.
- Manfredi, M.T., Di Cerbo, A.R., Zanzani, S., Stradiotto, K., 2010. Breeding management in goat farms of Lombardy, northern Italy: Risk factors connected to gastrointestinal parasites. Small Rumin. Res. 88: 113-118.
- Manga, Y., Gonzalez-Lanza, C., Del-Pozo, P., Hidalgo, R., 1990. Kinetics of *Fasciola hepatica* egg passage in the faeces of sheep in the Porma basin, Spain. Acta Parasitol. Pol. 35: 149-157.
- Manga-Gonzalez, M.Y., Gonzalez-Lanza, C., Del-Pozo-Carnero, P., 1991. Dynamics of the elimination of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda, Digenea) eggs in the faeces of lambs and ewes in the Porma basin (León, NW Spain). Ann. Parasitol. Hum. Comp. 66: 57-61.
- Manga, M<sup>o</sup>.Y., Quiroz, H., 1999. Parasitosis hepáticas: Dicroceliosis, En: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), Parasitología Veterinaria. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid, pp. 272-282.

- Mangeon, N.; Cabaret, J., 1987. Infestation comparée des ovins et des caprins en pâturages mixtes. *Bulletin des G.T.V.*, 4: 43-48.
- Marca, M.C., Ramos, J.J., Loste, A., Fernández, A., Hernández, M., 1996. Prevalencia de la toxoplasmosis ovina en la provincia de Zaragoza. *Med. Vet.* 13: 503-6.
- Martínez-Fernández, A.R., Muro-Álvarez, A., Simón-Martín, F., 1999. Diagnóstico de las parasitosis. En: *Parasitología Veterinaria*. Cordero, M.; Rojo, F.A. (Coordinadores). Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana: 158-177.
- Martínez Gómez, F., 1985. Problemas parasitarios de los rumiantes en régimen extensivo en el valle del Guadalquivir. *Comunicación INIA. Servicio Higiene y Sanidad Animal*, 11: 93-105.
- Martínez González, B., 1996. Estudios sobre nematodosis gastrointestinales ovinas: pautas profilácticas y dinámica de la infección en rebaños de producción láctea de la provincia de León. Tesis Doctoral. Universidad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Martínez, C.; Díez-Baños, P.; Mezo, M., 1989 a. Ritmos de eliminación larvaria de helmintos pulmonares en ovinos gallegos. VI Congreso Nacional y I Congreso Ibérico de Parasitología. Cáceres.
- Martínez, C.; Díez-Baños, P.; Morondo, P., 1989 b. Infestación natural por nematodos broncopulmonares en ovinos de raza Gallega. VI Congreso Nacional y I Congreso Ibérico de Parasitología. Cáceres, 25-29 Septiembre.
- Martínez-Valladares, M., Robles-Pérez, D., Martínez-Pérez, J.M., Cordero-Pérez, C., Famularo, M.D.R., Fernández-Pato, N., González-Lanza, C., Castañón-Ordóñez, L., Rojo-Vázquez, F.A., 2013. Prevalence of gastrointestinal nematodes and *Fasciola hepatica* in sheep in the northwest of Spain: Relation to climatic conditions and/or man-made environmental modifications. *Parasites and Vectors* 6: 282.
- Martins, J., Kwok, O.C.H., Dubey, J.P., 2011. Seroprevalence of *Neospora caninum* in free-range chickens (*Gallus domesticus*) from the Americas. *Vet. Parasitol.* 182: 349-351.
- Masala, G., Porcu, R., Madau, L., Tanda, A., Ibba, B., Satta, G., Tola, S., 2003. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. *Vet. Parasitol.* 117: 15-21.
- Masala, G., Porcu, R., Daga, C., Denti, S., Canu, G., Patta, C., Tola, S., 2007. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 19: 96-98.
- Matjila, P.T., Penzhorn, B.L., 2002. Occurrence and diversity of bovine coccidia at three localities in South Africa. *Vet. Parasitol.* 104: 93-102.
- McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A., McGuire, M., 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28: 1473-1478.
- McAllister, M.M., McGuire, A.M., Jolley, W.R., Lindsay, D.S., Trees, A.J., Stobart, R.H., 1996. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Vet. Pathol. Online* 33: 647-55.
- McKenna, P.B., 1981. The diagnostic value and interpretation of faecal egg counts in sheep. *N. Z. Vet.* 29: 129-132.

- McKenna, P.B., 1987. The estimation of gastrointestinal strongyle worm burdens in young sheep flocks: a new approach to the interpretation of faecal egg counts I development. *N. Z. Vet. J.* 35: 94-97.
- McKenna, P.B., 2002. Faecal egg counts as a guide for drench use. *N. Z. Vet. J.* 50: 123-124.
- Meana, A.; Rojo, V., 1999. Parasitosis del aparato digestivo: Tricostrongilidosis y otras nematodosis. En: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), *Parasitología Veterinaria*. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid: 237-253.
- Meerburg, B.G., Kijlstra, A., 2009. Changing climate-changing pathogens: *Toxoplasma gondii* in North-Western Europe. *Parasitol Res.* 105:17-24.
- Mehlhorn, H. (Ed.), 2008. *Encyclopaedia of Parasitology*. Springer, 3ª Ed. Heidelberg.
- Michalski, M., Platt-Samoraj, A., 2004. Extent of *Toxoplasma gondii* invasion in goat and sheep from the Olsztyn region. *Medycyna Weterynaryjna* 60: 70-71.
- Michel, J.F., 1969. The Epidemiology and Control of Some Nematode Infections of Grazing Animals. *Adv. Parasitol.* 7: 211-282.
- Miller, H.R.P., 1987. Vaccination against intestinal parasites. *Int. J. Parasitol.* 17: 43-51.
- Miro, G.; Meana, A.; Almeria, S., 1993. Definición y etiología de la gastroenteritis parasitaria. *Ovis*, 25: 11-19.
- Miró, G.; Meana, A.; Rojo, F.A., 1991. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de *Trichostrongylus colubriformis*. *Medicina Veterinaria*, 8: 275-280.
- Moore, D.P., de Yaniz, M.G., Odeón, A.C., Cano, D., Leunda, M.R., Späth, E.A.J., Campero, C.M., 2007. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in goats from La Rioja Province, Argentina. *Small Rumin. Res.* 73: 256-258.
- Moreno, T., 1983. Seroepidemiología de la toxoplasmosis en la provincia de Córdoba. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.
- Morrondo, P.; Cordero, M.; Rojo, F.A.; Diez-Baños, P., 1978. Cinética de la eliminación larvaria en bronconeumonías verminosas ovinas. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, 24: 39-45.
- Morrondo, P.; Manga, M.Y.; Cordero, M.; Diez-Baños, P.; Diez-Baños, N., 1987. Development of *Neostromylus linearis* (Nematoda, Protostrongylidae) larvae in *Cerutuella cespitum arigonis* (Mollusca, Stylommatophora) infected in the laboratory and kept in its natural environment. *Angewandte Parasitologie*, 28: 37-45.
- Morrondo, P.; Manga, M.Y.; Cordero, M.; Diez, P.; Diez, N., 1988. Larval development of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in experimentally infected *Cerutuella (Xeromagna) cespitum arigonis* (Mollusca, Helicidae). *Journal of Molluscan Studies*, 54: 21-34.
- Morrondo, P.; Manga, M.Y.; Cabanas, M.E., 1990. Ovine verminous bronchopneumonia. Kinetics of the larvae elimination in the Porma basin. VII International Congress of Parasitology. París: 686.
- Morrondo, P.; González, C.; Hidalgo, M.R.; Manga, M.Y., 1991 b. Cinética de la eliminación larvaria de nematodos broncopulmonares en ovinos de la provincia de León. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales de Parasitología (ICASEP I). Valencia.

- Morrondo, P.; Manga, M.Y.; González, C., 1991 c. Eliminación de larvas de Protostrongylidae y Dictyocaulidae por ovinos marcados de los montes Cántabro-Leoneses. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales de Parasitología (ICASEP I). Valencia.
- Morrondo, P.; Díez-Baños, P.; Cabaret, J., 1992 b. Influence of desiccation of faeces on survival and infectivity of first-stage larvae of *Muellerius capillaris* and *Neostongylus linearis*. Journal of Helminthology, 66: 213-219.
- Morrondo, P.; Feijóo, A.; Díez-Baños, P.; López, C., 1992 c. Comparative study of Protostrongylidae (Nematoda) infection between control y treated sheep in rotational grazing. VI European Multicolloquium of Parasitology. The Hague (Netherlands).
- Morrondo, P., López, C., Díez-Baños, N., Panadero, R., Suárez, J.L., Paz, A., Díez-Baños, P., 2005. Larval development of *Neostongylus linearis* (Nematoda, Protostrongylidae) in the mollusc *Cochlicella barbara* infected and maintained in a subhumid area (north-west Spain) and its possible influence on the infection of small ruminants. Parasitol. Res. 97: 318-322.
- Munguía-Xóchihua, J.A., Ibarra-Velarde, F., Ducoing-Watty, A., Montenegro-Cristino, N., Quiroz-Romero, H., 2007. Prevalence of *Fasciola hepatica* (ELISA and fecal analysis) in ruminants from a semi-desert area in the northwest of Mexico. Parasitol. Res. 101: 127-130.
- Muro, A.; Ramajo, V., 1999. Parasitosis del aparato digestivo: Paranfistomosis. Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), Parasitología Veterinaria. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid: 225-228.
- Naguleswaran, A., Hemphill, A., Rajapakse, R.P.V.J., Sager, H., 2004. Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: Validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka. Vet. Parasitol. 126: 257-262.
- Nasir, A., Ashraf, M., Khan, M.S., Javeed, A., Yaqub, T., Avais, M., Reichel, M.P., 2012. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep and goats in Pakistan. J. Parasitol. 98: 213-215.
- Nicholls, J., Obendorf, D.L., 1994. Application of a composite faecal egg count procedure in diagnostic parasitology. Vet. Parasitol. 52: 337-342.
- Norton, C.C., 1986. Coccidia of the domestic goat *Capra hircus*, with notes on *Eimeria ovinoidalis* and *E. bakuensis* (syn. *E. ovina*) from the sheep *Ovis aries*. Parasitology 92: 279-289.
- Ntafis, V., E. Xylouri, A. Diakou, K. Sotirakoglou, I. Kritikos, E. Georgakilas, Menegatos, I., 2007. Serological survey of antibodies against *Toxoplasma gondii* in organic sheep and goat farms in Greece. J. Hellenic. Vet. Med. Soc. 58: 22-33.
- O'Callaghan, M.G., 1989. Coccidia of domestic and feral goats in South Australia. Vet. Parasitol. 30: 267-272.
- Ollerenshaw, C.B., Rowlands, W.T., 1959. A method of forecasting the incidence of fascioliasis in Anglesey. Vet. Rec. 71, 591-598.
- Otranto, D., Traversa, D., 2002. A review of microcoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. Vet. Parasitol. 107: 317-335.
- Otranto, D., Traversa, D., 2003. Microcoeliosis of ruminants: A little known fluke disease. Trends Parasitol. 19: 12-15.

- Padungtod, P., Kaneene, J.B., Jarman, D., Jones, K., Johnson, R., Drummond, A., Duprey, Z., Chaichanapunpol, I., 2001. Enteric parasitosis in northern Thailand dairy heifers and heifer calves. *Prev. Vet. Med.* 48: 25-33.
- Painceira, A., 2007. Evaluación de resistencia antihelmíntica en ovejas explotadas en régimen semiextensivo. Memoria de Licenciatura. Facultad de veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Painceira, A., 2012. Prevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por endoparásitos en rumiantes domésticos y silvestres de la provincia de Lugo. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Pal, R.A.; Qayyum, M., 1992. Breed, age and sex-wise distribution of gastrointestinal helminthes of sheep and goats in an around Rawalpindi region. *Pakistan Veterinary Journal*, 12: 60-63.
- Panadero, R., Paineira, A., López, C., Vázquez, L., Paz, A., Díaz, P., Dacal, V., Cienfuegos, S., Fernández, G., Lago, N., Díez-Baños, P., Morrondo, P., 2010. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). *Res. Vet. Sci.* 88: 111-115.
- Papadopoulos, E., Sotiraki, S., Himonas, C., Fthenakis, G.C., 2004. Treatment of small lungworm infestation in sheep by using moxidectin. *Vet. Parasitol.* 121: 329-336.
- Paré, J., Fecteau, G., Fortin, M., Marsolais, G., 1998. Seroprevalence study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc.* 213: 1595-1598.
- Pavoncelli, R.; Tampieri, M.P., 1978. The occurrence of hepatic trematodes in sheep from Emilia-Romagna. *Parassitologia*, 20: 217-220.
- Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Pedreira, J., Arias, M., López, C., Panadero, R., Díaz, P., Díez-Baños, P., Morrondo, P., 2003. Prevalence of natural ovine fasciolosis shown by demonstrating the presence of serum circulating antigens. *Parasitol. Res.* 91: 328-331.
- Pedreira, J., 2006. Infecciones por tricostrongídeos en ovinos de la provincia de Lugo. Estudios in vivo e in vitro sobre resistencias a bencimidazoles y lactonas macrocíclicas. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Pedreira, J.; Díaz, P.; Sánchez-Andrade, R.; Panadero, R.; Paz, A.; Álvarez-Sánchez, M.A.; Díez-Baños, P.; Morrondo, P., 2001a. Aplicación de la prueba in vivo de reducción en el recuento de huevos fecales en rebaños de ovinos de la provincia de Lugo. VIII Congreso Ibérico de Parasitología. Porto.
- Pedreira, J.; Díaz, P.; Suárez, J.L.; Sánchez-Andrade, R.; Panadero, R.; Freiría, D.; Paz, A.; Díez-Baños, P.; Morrondo, P., 2001b. Study of the helminth parasitism in sheep flocks in Galicia. IX International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum.). León (Spain).
- Pedreira, J.; Feijoo, A.; Paz-Silva, A.; Sánchez-Andrade, R.; Suárez, J. L.; Díaz, P.; López, C.; Díez-Baños, P.; Morrondo, P., 2003. Digestive parasitosis in ovine from Galicia. XI International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum.). Olbia (Italy).



- Peinado-Peláez, M.; Gómez-García, V.; Rodríguez-Orsorio, M., 1989. Estudio epidemiológico de la fasciolosis en el ganado de la provincia de Granada. Resúmenes del VI Congreso Nacional y I Congreso Ibérico de Parasitología, Cáceres (Spain), 25-29 September.
- Penzhorn, B.L., Rognlie, M.C., Hall, L.L., Knapp, S.E., 1994. Enteric coccidia of Cashmere goats in southwestern Montana, USA. *Vet. Parasitol.* 55: 137-142.
- Pérez-Creo, A., 2015. Seroprevalencia de *Fasciola hepatica* en ganado ovino y caprino en Galicia y análisis de los principales factores de riesgo. Tesis. Doctoral. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidade de Santiago de Compostela.
- Pérez-Creo, A., Béjar, J.P., Díaz, P., López, C.M., Prieto, A., Viña, M., Martínez-Sernández, V., Panadero, R., Díez-Baños, P., Ubeira, F.M., Morrondo, P., 2016a. *Fasciola hepatica* in sheep from north-western Spain. Risk factor analysis using a capture ELISA (MM3 SERO). *Small Rumin. Res.* 145: 103-106.
- Pérez-Creo, A., Díaz, P., López, C., Béjar, J.P., Martínez-Sernández, V., Panadero, R., Díez-Baños, P., Ubeira, F.M., Morrondo, P., 2016b. *Fasciola hepatica* in goats from north-western Spain: Risk factor analysis using a capture ELISA. *Vet. J.* 208: 104-105.
- Phiri, A.M., Phiri, I.K., Sikasunge, C.S., Monrad, J., 2005a. Prevalence of fasciolosis in Zambian cattle observed at selected abattoirs with emphasis on age, sex and origin. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Heal.* 52: 414-416.
- Phiri, A.M., Phiri, I.K., Siziya, S., Sikasunge, C.S., Chembensofu, M., Monrad, J., 2005b. Seasonal pattern of bovine fasciolosis in the Kafue and Zambezi catchment areas of Zambia. *Vet. Parasitol.* 134: 87-92.
- Plant, J.W., Richardson, N., Moyle, G.G., 1974. *Toxoplasma* infection and abortion in sheep associated with feeding of grain contaminated with cat faeces. *Aust. Vet. J.* 50, 19-21.
- Pout, D.D., 1969. Coccidiosis of sheep. *Veterinary Bulletin*, 39: 609-618.
- Prelezov, P., Koinarski, V., Georgieva, D., 2008. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goats in the Stara Zagora region. *Bulgarian J. Vet. Med.* 11, 113-119.
- Preston, J.M., Allonby, E.W., 1979. The influence of breed on the susceptibility of sheep of *Haemonchus contortus* infection in Kenya. *Res. Vet. Sci.* 26, 134-139.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ramajo, V.; Muro, A., 1999. Cestodosis digestivas, En: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), *Parasitología Veterinaria*. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid, pp. 229-237.
- Ramajo, V.; López-Aban, J.; Serrano, A.E.; Oleaga-Pérez, A.; Muro, A., 1995. A long-term study on the prevalence of gastrointestinal, hepatic and pulmonary parasitism in adult cattle from Salamanca Province, Western Spain. *Revista Ibérica de Parasitología (Research and Reviews in Parasitology)*, 55: 231-234.
- Ramzan, M., M. Akhter, F. Muhammad, I. Hussain, E. Hyszczynska-Sawicka, A.U. Haq, M.S. Mahmood, Hafeez, M.A., 2009. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in Rahim Yar Khan (Punjab), Pakistan. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 41: 1225-1229.

- Rego, W.M.F., Paula, N.R.O., Vitor, R.W.A., Silva, R.A.B., Diniz, B.L.M., Sousa, M.M., Coelho, W.A.C., Pinheiro, R.R., Alves, F.S.F., Cavalcante, A.C.R., Cardoso, J.F.S., Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in goats and sheep raised in the State of Piauí in northeast Brazil. *Small Rum. Res.* 141: 17-23.
- Rehbein, S., Visser, M., 2002. Efficacy of Ivermectin Delivered via a Controlled-Release Capsule against Small Lungworms (Protostrongylidae) in Sheep. *J. Vet. Med. Ser. B* 49: 313–316.
- Reina, D.; Navarrete, I.; Hernández, S.; Habela, M., 1987. Contribución al conocimiento de la parasitofauna de Cáceres. Primera relación. II. Helmintos. *Revista Ibérica de Parasitología*, Volumen Extraordinario: 85-90.
- Richard, S., Cabaret, J., Cabourg, C., 1990. Genetic and environmental factors associated with nematode infection of dairy goats in northwestern France. *Vet. Parasitol.* 36: 237-243.
- Rinaldi, L., Fusco, G., Musella, V., Veneziano, V., Guarino, A., Taddei, R., Cringoli, G., 2005. *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. *Vet. Parasitol.* 128: 219-230.
- Robert-Gangneux, F., Dardé, M.L., 2012. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 25: 264-296.
- Roberts, J.A., Estuningsih, E., Widjayanti, S., Wiedosari, E., Partoutomo, S., Spithill, T.W., 1997a. Resistance of Indonesian thin tail sheep against *Fasciola gigantica* and *F. hepatica*. *Vet. Parasitol.* 68: 69-78.
- Roberts, J.A., Widjayanti, S., Estuningsih, E., Hetzel, D.J., 1997b. Evidence for a major gene determining the resistance of Indonesian Thin Tail sheep against *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasitol.* 68: 309-314.
- Rodríguez-Pérez, J., Hillyer, G.V., 1995. Detection of excretory-secretory circulating antigens in sheep infected with *Fasciola hepatica* and with *Schistosoma mansoni* and *F. hepatica*. *Vet. Parasitol.* 56: 57-66.
- Rodríguez-Ponce, E., Molina, J.M., Hernández, S., 1995. Seroprevalence of goat toxoplasmosis on Grand Canary Island (Spain). *Prev. Vet. Med.* 24: 229-234.
- Rodríguez-Ponce, E., Conde, M., Corbera, J.A., Jaber, J.R., Ventura, M.R., Gutiérrez, C., 2017. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goat population in Canary Islands (Macaronesia Archipelago, Spain). *Small Rumin. Res.* 147: 73-76.
- Rodríguez-Rajo, F.J., Frenguelli, G., Jato, M.V., 2003. Effect of air temperature on forecasting the start of the Betula pollen season at two contrasting sites in the south of Europe (1995-2001). *Int. J. Biomet.* 47: 117-125.
- Roeber, F., Jex, A.R., Gasser, R.B., 2013. Advances in the diagnosis of key gastrointestinal nematode infections of livestock, with an emphasis on small ruminants. *Biotechnol. Adv.* 31: 1135-1152.
- Rojo-Vázquez, F.A., 1986. Epizootiología y control de las parasitosis gastrointestinales y hepáticas de los rumiantes. *One, Monografía de ovino*: 138-143.



- Rojo-Vázquez, F.A.; Castaño-Rosado, M.; Rodríguez-Sánchez, M., 1989. Trematodosis hepáticas. Fasciolosis. Bovis, 31: 9-71.
- Rojo Vázquez, F.A.; Díez-Baños, N.; Mezo, M.; Díez-Baños, P.; Morrondo Pelayo, P., 1997. Gastroenteritis parasitarias. Bovis, 79: 1-78.
- Rojo-Vázquez, F.A., Ferre-Pérez, P., 1999. Parasitosis hepáticas: Fasciolosis, En: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A. (Eds.), Parasitología Veterinaria. McGRAW-HILL Interamericana, Madrid, pp. 260-272.
- Rojo-Vázquez, F.A., Díez-Baños, P., Morrondo-Pelayo, P., 2003. Dicroceliosis. En: Enfermedades parasitarias del ganado ovino y caprino. (Coordinadores): Sánchez-Acedo. Veterinaria Esteve, Ediciones GEA, Barcelona: 67-70.
- Rose, C.H., Jacobs, D.E., 1990. Epidemiology of *Nematodirus* species infections of sheep in a subarctic climate: development and persistence of larvae on herbage. Res. Vet. Sci. 48: 327-330.
- Rossanigo, C.E., Gruner, L., 1995. Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. J. Helminthol. 69: 357-362.
- Rossi, G.F., Cabral, D.D., Ribeiro, D.P., Pajuaba, A.C.A.M., Corrêa, R.R., Moreira, R.Q., 2011. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods. Vet. Parasitol. 175: 252-259.
- Ruiz, A., González, J.F., Rodríguez, E., Martín, S., Hernández, Y.I., Almeida, R., Molina, J.M., 2006. Influence of climatic and management factors on *Eimeria* infections in goats from semi-arid zones. J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Heal. 53: 399-402.
- Ruiz, A., Matos, L., Muñoz, M.C., Hermosilla, C., Molina, J.M., Andrada, M., Rodríguez, F., Pérez, D., López, A., Guedes, A., Taubert, A., 2013a. Isolation of an *Eimeria ninakohlyakimovae* field strain (Canary Islands) and analysis of its infection characteristics in goat kids. Res. Vet. Sci. 94: 277-284.
- Ruiz, A., Muñoz, M.C., Molina, J.M., Hermosilla, C., Rodríguez, F., Andrada, M., Martín, S., A.Guedes, Pérez, D., Matos, L., López, A.M., Taubert, A., 2013b. Primary infection of goats with *Eimeria ninakohlyakimovae* does not provide protective immunity against high challenge infections. Small Rumin. Res. 113: 258-266.
- Russel, A.J.F., Doney, J.M., Gunn, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. J. Agric. Sci. 72: 451-454.
- Sánchez-Acedo, C., 1992. Zoonosis parasitarias. Discurso de Ingreso en la Real Academia de Medicina de Zaragoza: 1-183.
- Sánchez Acedo, C.; Del Cacho, E., 1996. Manifestaciones clínicas y cuadro lesional. En: López Sansebastián, A. (Ed.), Dictiocaulosis bovina, BOVIS nº 68, Ed. Luzán 5, MADRID.
- Sánchez-Andrade-Fernández, R.; Morrondo-Pelayo, P.; López-Sández, C.; Panadero-Fontán, R.; Díez-Baños, P., 1995. Evaluation of *Fasciola hepatica* infection prevalence in cattle in Galicia (Northwest Spain) by enzyme linked immunosorbent assay. Revista Ibérica de Parasitología (Research and Reviews in Parasitology), 55: 103-107.

- Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suárez, J., Panadero, R., Pedreira, J., Díez-Baños, P., Morondo, P., 2001. Effect of fasciolicides on the antigenaemia in sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Parasitol. Res.* 87: 609-614.
- Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suárez, J.L., Panadero, R., Pedreira, J., López, C., Díez-Baños, P., Morondo, P., 2002. Influence of age and breed on natural bovine fasciolosis in an endemic area (Galicia, NW Spain). *Vet. Res. Commun.* 26: 361-370.
- Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suárez, J.L., Arias, M., López, C., Morondo, P., Scala, A., 2003. Serum antibodies to *Dicrocoelium dendriticum* in sheep from Sardinia (Italy). *Prev. Vet. Med.* 57: 1-5.
- Santana, L.F., Rossi, G.A.M., Gaspar, R.C., Pinto, V.M.R., de Oliveira, G.P., da Costa, A.J. 2013. Evidence of sexual transmission of *Toxoplasma gondii* in goats. *Small Rumin. Res.* 115, 130-3.
- Santos, C.S.A.B., Azevedo, S.S., Soares, H.S., Higino, S.S.S., Santos, F.A., Silva, M.L.C.R., Pena, H.F.J., Alves, C.J., Gennari, S.M., 2013. Flock-level risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. *Small Rumin. Res.* 112: 239-242.
- Savin, Z.; Petrovic, Z.; Vujic, B.; Bordjoski, A.; Popovic, B., 1978. Importance of fasciolosis in the high mountainous pasture lands. *Proceedings 4th International Congress of Parasitology*, August 19-26, Warszawa, Poland.
- Sayin, F. Dincer, S. Milli, U., 1980. The life and pathogenicity of *Eimeria arloingi* (Marotel, 1905) Martin, 1909 in Angora Kids and an attempt at its transmission to lambs. *Zentralbl. Vet. Reihe.*, 27: 382-397
- Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Bärwald, A., Conraths, F.J., 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.* 80: 87-98.
- Schares, G., Bärwald, A., Staubach, C., Ziller, M., Klöss, D., Wurm, R., Rauser, M., Labohm, R., Dräger, K., Fasen, W., Hess, R.G., Conraths, F.J., 2003. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression. *Int. J. Parasitol.* 33:1631-1640.
- Schares, G., Wilking, H., Bolln, M., Conraths, F.J., Bauer, C., 2009. *Neospora caninum* in dairy herds in Schleswig-Holstein, Germany. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 122: 47-50.
- Schillhorn Van Veen, T.W., 1986. Coccidiosis in ruminants. *Comp. Food Anim.* 8: F52-F58.
- Scott, H.M., Sorensen, O., Wu, J.T.Y., Chow, E.Y.W., Manninen, K., 2007. Seroprevalence of and agroecological risk factors for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and *Neospora caninum* infection among adult beef cattle in cowcalf herds in Alberta, Canada. *Can. Vet. J.* 48: 397-406.
- Silva, L.M., Vila-Viçosa, M.J., Nunes, T., Taubert, A., Hermosilla, C., Cortes, H.C., 2014. *Eimeria* infections in goats in Southern Portugal. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23: 280-286.

- Silva A.V., Cunha E.L.P., Meireles L.R., Gottschalk S., Mota R.A., Langoni H., 2003. Sheep and goat toxoplasmosis: seroepidemiological study in two regions in the State of Pernambuco, Brazil. *Revista Ciência Rural* 33, 115-119.
- Silvestre, A., Sauvé, C., Cabaret, J., 2000. Caprine *Paramphistomum daubneyi* (Trematoda) infection in Europe. *Vet. Rec.* 146: 674-675.
- Simón, F.; Ramajo, V., 1985. Principales problemas parasitarios ligados al pastoreo en especial en el ganado ovino de la provincia de Salamanca. Las parasitosis de los rumiantes en pastoreo en España. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Comunicaciones INIA, Servicio de Higiene y Sanidad Animal, 11: 35-37.
- Sindoni, L., Cananzi, F., Ciano, V., 1989. Indagine sieroepidemiologica sulla prevalenza di anticorpi antitoxoplasma in ovini, caprini e bovini stanzianti in alcune zone della Sicilia: valutazione dei tests utilizzati. *Arch. Vet. Ital.* 40, 118-127.
- Skjerve, E., Waldeland, H., Nesbakken, T., Kapperud, G., Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Prev. Vet. Med.* 35: 219-227.
- Smith, M.C., Sherman D.M., 2009. Goat medicine. Willy-Blackwell Publication (2ª Ed.).
- Soe, A.K., Pomroy, W.E., 1992. New species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from the domesticated goat *Capra hircus* in New Zealand. *Syst. Parasitol.* 23: 195-202.
- Soulsby, E.J.L., 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Ed. Interamericana México, D.F.
- Stadaliene, I., Petkevičius, S., Šarkunas, M., 2014. The impact of grazing management on seasonal activity of gastrointestinal parasites in goats. *Helminthol.* 51: 103-111.
- Stefanakis, A., Bizake, A., Krambovitis, E., 1995. Seroprevalence of toxoplasmosis in the sheep and goats of Crete, Greece. *Bull. Hell. Vet. Med. Soc.* 46, 243-249.
- Suárez, V., Bertoni, E., Micheloud, J., Cafrune, M., Viñabal, A., Quiroga Roger, J., Bassanetti, A., 2014. First record of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in northwestern Argentina. *Helminthologia* 51, 288-292.
- Szmídt-Adjidé, V., Abrous, M., Adjidé, C.C., Dreyfuss, G., Lecompte, A., Cabaret, J., Rondelaud, D., 2000. Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle in central France. *Vet. Parasitol.* 87: 133-138.
- Tamiru, N., Getachew, T., Patton, S., Prevot, F., Dorchies, P., 2004. Serological survey of toxoplasmosis in sheep and goats in Nazareth, Ethiopia. *Rev. Méd. Vét.* 155: 486-487.
- Tarazona, J.M.; Sanz, A.; Babin, M.M.; Canals, A.; Dominguez, T.; Martin, M.; Trujillo, J., 1985. Problemas parasitarios de los rumiantes en pastoreo en la meseta meridional. Comunicaciones I.N.I.A. Serie: Higiene y Sanidad Animal, 11: 63-69.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L., 2007. *Veterinary Parasitology*, 3ªEd. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Taylor, M.A., Catchpole, J., 1994. Coccidiosis of domestic ruminants. *Appl. Parasitol.*, 35: 73-86.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30: 1217-1258.

- Teshale, S., Dumètre, A., Dardé, M.L., Merga, B., Dorchies, P., 2007. Serological survey of caprine toxoplasmosis in Ethiopia: Prevalence and risk factors. *Parasite* 14: 155-159.
- Thienpont, D.; Rochette, F.; Vanparijs, O.F.J., 1986. Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination. Janssen Research Foundation, 2<sup>a</sup> Ed. Beerse, Belgium.
- Tilaye, D., Getachew, T., 2002. Study on toxoplasmosis in sheep and goats in Debre Berhan and the surrounding areas in central Ethiopia. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa* 50: 138-147.
- Tölü, C., Savaş, T., 2016. A comparison of natural *Eimeria* spp. and gastrointestinal nematode infections of goat breeds. *Tarim Bilim. Derg.* 22: 522-527.
- Topazio, J.P., Weber, A., Camillo, G., Vogel, F.F., Machado, G., Ribeiro, A., Moura, A.B., Lopes, L.S., Tonin, A.A., Soldá, N.M., Bräunig, P., da Silva, A.S., 2014. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in goats in Santa Catarina state, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23: 360-366.
- Traversa, D., Di Cesare, A., Milillo, P., Iorio, R., Otranto, D., 2008. *Aelurostrongylus abstrusus* in a feline colony from central Italy: clinical features, diagnostic procedures and molecular characterization. *Parasitol. Res.* 103: 1191-1196.
- Tzanidakis, N., Maksimov, P., Conraths, F.J., Kioussis, E., Brozos, C., Sotiraki, S., Schares, G., 2012. *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: Seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices. *Vet. Parasitol.* 190: 340-348.
- Unzaga, J.M., Moré, G., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Dellarupe, A., De Felice, L., Gos, M.L., Venturini, M.C., 2014. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. *Parasitol. Int.* 63:865-867.
- Uriarte, J., Grüner, L., 1989. Development and survival of free-living stages of Trichostrongylidae of sheep on irrigated pastures in Zaragoza (Spain). *Ann. Rech. Vet.* 20: 83-91.
- Uriarte, J.; Cabaret, J.; Tanco, J.A., 1985. The distribution and abundance of parasitic infections in sheep grazing on irrigated or on non-irrigated pastures in north-eastern Spain. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 16: 321-325.
- Uriarte, J.; Minguijón, N.; Tanco, J.A., 1979. Incidencia parasitaria en rebaños de la provincia de Zaragoza. *Información Técnica Económica Agraria (ITEA)*, 35: 9-16.
- Uzêda, R.S., Pinheiro, A.M., Fernández, S.Y., Ayres, M.C.C., Gondim, L.F.P., Almeida, M.A.O., 2007. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. *Small Rumin. Res.* 70: 257-259.
- Valcárcel, F., 1993. Algunos aspectos de la profilaxis y control de las trichostrongilidosis ovinas en Castilla-La Mancha. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- Valcárcel, F., García Romero, C., 1999. Prevalence and seasonal pattern of caprine trichostrongyles in a dry area of Central Spain. *J. Vet. Med. Ser. B* 46: 673-681.
- Valcárcel, F.; Rojo, F.A.; Olmeda, A.S.; Arribas, B.; Márquez, L.; Fernández, N., 2009. Atlas de Parasitología ovina. Editorial Servet.
- Van der Puije, W., K. Bosompem, E. Canacoo, Wastling, J., Akanmori, B., 2000. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Tropica*. 76: 21-26

- Van Wyk, J.A., Bath, G.F., 2002. The FAMACHA© system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.* 33: 509-529.
- Van Wyk, J.A., Cabaret, J., Michael, L.M., 2004. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Vet. Parasitol.* 119: 277-306.
- Vázquez, L.; Dacal, V.; Cienfuegos, S.; Díaz, P.; Lago, N.; Panadero, R.; Fernández, G.; Morondo, P.; López, C., 2008. Occurrence of trematode eggs from Galicia (N.W. Spain). XVI International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum). Zadar (Croatia).
- Vázquez-Rodríguez, L., 2016. Prevalencia de nematodos gastrointestinales y broncopulmonares en pequeños rumiantes mantenidos en intensivo en Galicia. Trabajo Fin de Grado. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- Vercruysse, J., 1982. The coccidia of sheep and goats in Senegal. *Vet. Parasitol.* 10: 297-306.
- Vesco, G., Buffolano, W., La Chiusa, S., Mancuso, G., Caracappa, S., Chianca, A., 2007. *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. *Vet. Parasitol.* 146: 3-8.
- Viña, M., Panadero, R., Díaz, P., Fernández, G., Pérez, A., Díez-Baños, P., Morondo, P., López, C.M., 2013. Evaluation of the use of pooled fecal samples for the diagnosis of protostrongylid infections in sheep. *Vet. Parasitol.* 197: 231-234.
- Waller, P.J., Donald, A.D., Dobson, R.J., Lacey, E., Hennessy, D.R., Allerton, G.R., Prichard, R.K., 1989. Changes in anthelmintic resistance status of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* exposed to different anthelmintic selection pressures in grazing sheep. *Int. J. Parasitol.* 19: 99-110.
- Wang, C.R., Xiao, J.Y., Chen, A.H., Chen, J., Wang, Y., Gao, J.F., Zhu, X.Q., 2010. Prevalence of coccidial infection in sheep and goats in northeastern China. *Vet. Parasitol.* 174.
- Wang, C.R., Qiu, J.H., Gao, J.F., Liu, L.M., Wang, C., 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats in northeastern China. *Small Rumin. Res.*, 97: 130-133.
- Waruiru, R.M., Kyvsgaard, N.C., Thamsborg, S.M., Nansen, P., Bøgh, H.O., Munyua, W.K., Gathuma, J.M., 2000. The prevalence and intensity of helminth and coccidial infections in dairy cattle in Central Kenya. *Vet. Res. Commun.* 24: 39-53.
- Waruiru, R.M., Thamsborg, S.M., Nansen, P., Kyvsgaard, N.C., Bøgh, H.O., Munyua, W.K., Gathuma, J.M., 2001. The epidemiology of gastrointestinal nematodes of dairy cattle in Central Kenya. *Trop. Anim. Health Prod.* 33: 173-187.
- Whitlock, H. V., 1959. The recovery and identification of the first stage larvae of sheep nematodes. *Aust. Vet. J.* 35: 310-316.
- Yin, M.Y., Wang, J.L., Huang, S.Y., Qin, S.Y., Zhou, D.H., Liu, G.X., Tan, Q.D., Zhu, X.Q., 2015. Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* in Tibetan Sheep in Gansu province, Northwestern China. *BMC Vet. Res.* 11: 41.
- Yvoré, P., Esnault, A., Mage, C., Dobbels, M., Naciri, M. 1987. Intrbt et interpretation de la coproscopie dans la coccidiose des petits ruminants. *Point Vet* 19: 43-48
- Zajac, A.M., 2006. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics, and Diagnosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22: 529-541.



- Zhao, G.H., Lei, L.-H., Shang, C.-C., Gao, M., Zhao, Y.Q., Chen, C.-X., Chen, D.-K., 2012. High prevalence of *Eimeria* infection in dairy goats in Shaanxi province, northwestern China. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 943-946.
- Zhou, M., Cao, S., Sevinc, F., Sevinc, M., Ceylan, O., Liu, M., Wang, G., Moumouni, P.F.A., Jirapattharasate, C., Suzuki, H., Nishikawa, Y., Xuan, X., 2016. Enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant TgSAG2 and NcSAG1 to detect *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*-specific antibodies in domestic animals in Turkey. *J. Vet. Med. Sci.* 78: 1877-1881.
- Zvinorova, P.I., Halimani, T.E., Muchadeyi, F.C., Matika, O., Riggio, V., Dzama, K., 2016. Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infections in goats in low-input low-output farming systems in Zimbabwe. *Small Rumin. Res.* 143: 75-83.

